



La Physique pour la Santé: du diagnostic à la thérapie

Maurice R. Kibler, J.-C. Poizat

► To cite this version:

Maurice R. Kibler, J.-C. Poizat. La Physique pour la Santé: du diagnostic à la thérapie. Maurice Kibler et Jean-Claude Poizat. Institut de Physique Nucleaire de Lyon, pp.240, 2003. hal-00001383

HAL Id: hal-00001383

<https://hal.science/hal-00001383>

Submitted on 24 Nov 2006

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

La Physique pour la Santé : du diagnostic à la thérapie

éditeurs scientifiques : M. Kibler et J.-C. Poizat
Institut de Physique Nucléaire de Lyon

Avant-propos

Les écoles d'été de physique e2phy sont nées du constat de la désaffection des jeunes pour la physique. Il s'agit de convaincre les jeunes, à travers leurs enseignants, que la physique et la chimie jouent un rôle majeur dans le monde du vingt et unième siècle : nouvelles technologies, énergie, environnement, sciences de la vie, santé, etc.

Le cycle e2phy, créé à l'initiative du Groupe de Réflexion sur l'Enseignement de la Physique Subatomique (GREPS), constitué de chercheurs et d'enseignants-chercheurs, principalement de la Direction des Sciences de la Matière (DSM) du Commissariat à l'Énergie Atomique (CEA) et de l'Institut National de Physique Nucléaire et de Physique des Particules (IN2P3) du Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), a pour objectifs de :

- convaincre les jeunes, à travers leurs enseignants du second degré et des CPGE (classes préparatoires aux grandes écoles), que la physique est une discipline incontournable dans notre monde, souvent en liaison avec des problèmes de société liés par exemple à l'énergie, l'environnement ou la santé
- rassembler des enseignants de diverses structures permettant des échanges fructueux, notamment entre des enseignants des lycées et des CPGE et des chercheurs, enseignants-chercheurs et ingénieurs du supérieur.

La première école d'été e2phy a eu lieu à Caen fin août 2001 sur le thème transversal de l'énergie. L'école d'été e2phy 2002 « La physique pour la santé : du diagnostic à la thérapie » s'est déroulée à Lyon-Villeurbanne du 26 au 29 août 2002. Elle a réuni plus de 300 participants sur le Domaine Scientifique de la Doua à Villeurbanne dans les locaux de l'Université Claude Bernard Lyon 1 (UCBL).

L'école a été organisée conjointement par un groupe d'universitaires et de scientifiques de l'IN2P3 du CNRS, de la DSM du CEA, et par l'UdP (Union des Physiciens), l'UPS (Union des Professeurs de Spéciales) et la SFP (Société Française de Physique), en partenariat avec l'UCBL, le Rectorat de l'Académie de Lyon et l'Inspection Générale de l'Éducation Nationale (avec le concours des Inspecteurs Pédagogiques Régionaux).

L'édition 2002 de e2phy a été une école d'envergure nationale de formation continue réunissant des futurs enseignants, des enseignants du secondaire et des CPGE, des enseignants-chercheurs du supérieur, des chercheurs du CNRS, du CEA et de l'Inserm (Institut national de la santé et de la recherche médicale), des ingénieurs, et des médecins ; sur les 309 participants, on comptait 174 enseignants du second degré et des CPGE, 98 chercheurs, enseignants-chercheurs, ingénieurs et médecins et, finalement, 37 étudiants, doctorants et divers. Il s'agissait aussi d'une manifestation relevant de la recherche puisque, d'une part, la finalité de l'école était la revivification des études scientifiques et donc à moyen terme une irrigation de la recherche et, d'autre part, l'école a donné une photographie des progrès, à l'instant t , de la physique, de la chimie, de la biologie et de la technologie appliquées à la médecine.

L'école s'est déroulée sous forme d'exposés (exposés généraux autour de l'interaction des ondes et particules avec la matière vivante, exposés sur différentes techniques d'imagerie, exposés sur des questions de recherche comme la micromécanique de l'ADN et un exposé sur les débouchés et métiers dans le domaine de la physique médicale) avec une demi-journée consacrée aux radiations ionisantes et non ionisantes. Une demi-journée a été réservée à des visites de laboratoires et de services hospitaliers de la région Rhône-Alpes : le laboratoire RMN à l'UCBL-ESCPE, le CERMEP à Lyon, l'unité 556 de l'Inserm à Lyon, l'ESRF à Grenoble, le centre laser de l'hôpital Édouard Herriot à Lyon et les services de radiothérapie du Centre Léon Bérard à Lyon et du Centre Hospitalier Lyon-Sud à Pierre-Bénite. Ces visites, qui illustraient une bonne partie des exposés, ont été très appréciées des participants. Une exposition de livres et de matériel scientifique d'enseignement a été organisée en parallèle avec les exposés lors d'une journée complète au milieu de l'école.

Ce programme – peut-être un peu dense – a été agrémenté par une réception-cocktail dans les salons de l'hôtel de ville de Lyon, un dîner sur les bords de Saône et une soirée musicale animée par l'Ensemble Vocal de Lyon.

Il semble bien que, au-delà de l'intérêt suscité par les exposés et les visites, les enseignants du second degré et des CPGE aient particulièrement apprécié les contacts et les échanges avec les acteurs de l'enseignement supérieur et de la recherche. S'il n'est pas présomptueux de dire que l'école a été un succès, il reste de la place pour améliorer le cycle. Il conviendrait en particulier de réduire le nombre d'exposés, de donner la parole aux enseignants du second degré et des CPGE à propos du manque d'intérêt des lycéens et des étudiants pour les études scientifiques (par exemple à l'occasion d'ateliers), de réserver une demi-journée aux expositions de livres et de matériel d'enseignement scientifique, et, enfin pourquoi pas, de réserver une soirée à une

découverte de la ville d'accueil en prolongeant par exemple une réception en mairie par une visite guidée.

L'évènement a été couvert par de nombreuses annonces et comptes rendus dans différents bulletins et sur plusieurs sites internet, par deux articles dans Le Progrès et par un article dans les Petites Affiches Lyonnaises. L'école s'est prolongée par la mise sur le site de e2phy (<http://e2phy.in2p3.fr>), d'une part, des diapositives des conférences et, d'autre part, des textes de ces conférences et également de séquences filmées de l'école.

L'intérêt suscité par cette manifestation auprès des élus et des tutelles nationales et locales apparaît clairement au regard des personnalités présentes à la tribune lors de la séance inaugurale : Monsieur M. Thiers, Vice-Président du Conseil général du Rhône, représentant Monsieur M. Mercier, Président du Conseil général du Rhône, Monsieur R. Fougères, chargé des relations ville-campus à la mairie de Villeurbanne, représentant Monsieur J.-P. Bret, Maire de Villeurbanne, Monsieur A. Morvan, Recteur de l'Académie de Lyon, Monsieur D. Debouzie, Président de l'UCBL, Madame J. Gallezot, Présidente du CEVU de l'UCBL, Monsieur J. Remillieux, Président du CS de l'UCBL, Monsieur F. Gounand, Directeur de la DSM (CEA), Monsieur J.J. Aubert, Directeur de l'IN2P3 (CNRS) et Monsieur Y. Déclais, Directeur de l'IPNL. À noter aussi que les participants de l'école ont été reçus à l'hôtel de ville de Lyon par Monsieur P. Laréal, adjoint au maire et délégué aux universités et à la recherche.

Bien sûr une telle manifestation n'aurait pas été possible sans un partenariat et un soutien financier important du Ministère de la Recherche, du CNRS, du CEA, de l'Inserm, de la DESCO de l'Éducation Nationale, des rectorats du territoire national, de l'Université Claude Bernard Lyon 1 et de l'IUFM de l'Académie de Lyon, du Conseil régional Rhône-Alpes, des Conseils généraux du Rhône et de l'Ain, des municipalités de Lyon et Villeurbanne, de sociétés savantes, d'industriels et de laboratoires privés.

Pour terminer, un mot sur l'utilisation du livre. La majorité des conférences présentées à l'école font l'objet d'un article complet ou d'un résumé détaillé dans ce livre. Dans les deux cas, le lecteur pourra compléter sa lecture en se reportant soit au site de l'école soit au CD-Rom joint à ce livre pour y découvrir différents éléments (transparents des conférences, textes des contributions et des résumés, livre d'or, etc.)

Maurice Kibler
Coordonnateur de e2phy 2002

Jean-Claude Poizat
Membre du comité local

Comité d'organisation national

Membres du GREPS, IN2P3 et CEA (Professeurs des universités ou Directeurs de recherche) :

Maurice Kibler (Lyon) : coordonnateur

Francis Leccia (Bordeaux)

Philippe Moretto (Bordeaux)

Bijan Saghai (Saclay)

Eric Suraud (Toulouse)

Bernard Tamain (Caen)

Médecins ou Physiciens d'hôpitaux (Professeurs des universités, Maîtres de conférences des universités, Praticiens hospitaliers ou Physiciens médicaux) :

Jacques Balosso (CHU et Université de Grenoble, médecin)

Jean Chavaudra (Institut Gustave Roussy à Villejuif, physicien médical)

Jean Maublant (Centre Jean Perrin à Clermont-Ferrand, médecin)

Alejandro Mazal (Institut Curie à Paris, physicien médical)

Bernard Mazoyer (Institut Cycon à Caen, médecin)

Jean-Claude Vandroux (CHU et Université de Limoges, médecin)

Société Française de Physique (Professeurs des universités ou Directeurs de recherche) :

François Amblard (Institut Curie, Paris)

Dominique Bolmont (UHA, Mulhouse)

Bernard Jacquier (UCBL, Lyon)

Union des Physiciens (Professeurs du second degré) :

Jean-Marie Biau (Lyon)

Marie-Françoise Karatchentzeff (Paris)

Madeleine Sonnevile (Paris)

Union des Professeurs de Spéciales (Professeurs de CPGE) :

Bruno Jeauffroy (Paris)

Bernard Meiss (Lyon)

Sophie Rémy (Limoges)

Institut Universitaire de Formation des Maîtres (Professeurs des universités ou Maîtres de conférences des universités) :

Claudette Lapersonne (Paris)

Jacques Toussaint (Lyon)

Inspection Générale de l'Éducation Nationale (Inspecteurs généraux) :

Claude Boichot (Paris)

Gilbert Pietryk (Paris)

Comité d'organisation local

Inspecteur pédagogique régional :

Luis Adalid (rectorat de Lyon)

Professeurs du second degré :

Jean-Marie Biau (UdP)

Martine Biau (UdP)

Professeurs des universités, Maîtres de conférences des universités,
Praticiens hospitaliers, Directeurs de recherche ou Chargés de recherche :

André Briguet (UCBL)

Albert Demeyer (UCBL)

Bernadette Farizon (UCBL)

Michel Farizon (UCBL)

Jean-Claude Gâcon (UCBL)

Bernard Jacquier (UCBL)

Maurice Kibler (UCBL, GREPS)

François Mauguière (UCBL)

Bernard Meiss (UPS)

Jean-Claude Poizat (UCBL)

Cédric Ray (UCBL)

Joseph Remillieux (UCBL)

Didier Revel (UCBL)

Dominique Sappey-Marinier (UCBL)

Jacques Toussaint (IUFM)

Secrétariat, logistique et gestion

Secrétariat :

Monique Croizé

Service de Documentation

Institut de Physique Nucléaire de Lyon (UCBL)

Logistique et gestion :

Philippe Cortès, Solange Perrel et l'équipe FOCAL

Formation continue et alternance (UCBL)

Soutien et partenariat

La liste des organismes nationaux et locaux, collectivités territoriales, sociétés savantes et industriels ayant accordé un soutien financier et/ou ayant oeuvré dans le cadre d'un partenariat s'établit comme suit :

Organismes nationaux

Ministère de la Recherche

Physique et Sciences pour l'Ingénieur (DS2)

Biologie, Médecine et Santé (DS5)

Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS)

Institut National de Physique Nucléaire et de Physique des Particules (IN2P3)

Département Sciences Chimiques (SC)

Département Sciences Physiques et Mathématiques (SPM)

Département Sciences pour l'Ingénieur (SPI)

Département Sciences de la Vie (SV)

Commissariat à l'Énergie Atomique (CEA)

Direction des Sciences de la Matière (DSM)

Ministère de l'Éducation Nationale

Direction de l'Enseignement Scolaire (DESCO)

Rectorats

Institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm)

Organismes locaux

Rectorat de l'Académie de Lyon

Université Claude Bernard Lyon 1

Conseil Scientifique (CS)

Conseil des Études et de la Vie Universitaire (CEVU)

Relations Internationales

UFR de Physique

Institut de Physique Nucléaire de Lyon (IPNL)

Projet ETOILE de Centre National d'Hadronthérapie

École Centrale de Lyon

Institut Universitaire de Formation des Maîtres (IUFM) de l'Académie de Lyon

Collectivités territoriales

Conseil régional Rhône-Alpes

Conseil général du Rhône

Conseil général de l'Ain

Ville de Lyon

Ville de Villeurbanne

Sociétés savantes

Société Française d'Énergie Nucléaire (SFEN)

Société Française de Radiologie (SFR)

Union des Professeurs de Spéciales (UPS)

Union des Physiciens (UdP)

Société Française de Physique (SFP)

Industriels

Électricité de France (EDF)

Siemens SAS

Laboratoire Guerbet

BRUKER

Liste des conférences et des conférenciers

De quelle physique la médecine a-t-elle besoin ?

André Syrota

Professeur des universités - Praticien hospitalier

Chef du Service Hospitalier Frédéric Joliot du CEA à Orsay

Directeur des Sciences du Vivant au CEA, Paris

Interaction des ondes et des particules avec la matière vivante

Christophe Champion

Maître de conférences des universités

Laboratoire de Physique Moléculaire et des Collisions

Institut de Physique de Metz

Université de Metz, Technopôle 2000, Metz

Les signaux du vivant et leur traitement

Jean-Louis Coatrieux

Directeur de recherche à l'Inserm

Laboratoire de Traitement du Signal et de l'Image

Inserm - Université de Rennes 1, Rennes

De la radiologie au scanner RX

Albert Lisbona

Physicien médical

Service de physique médicale

Centre régional de lutte contre le cancer

Nantes Atlantique, Saint Herblain

Médecine nucléaire : gamma-caméra et caméra à positons

Jean Philippe Vuillez

Professeur des universités – Praticien hospitalier

Service biophysique et médecine nucléaire

Hôpital Michallon et LER Inserm 00-08, Grenoble

La physique médicale : débouchés et métiers

Suzanne Naudy

Physicienne médicale

Service de radiothérapie – Centre G.F. Leclerc, Dijon

Ex-Présidente de la Société Française de Physique Médicale

Secrétaire de la Fédération Européenne des Organisations de Physique Médicale

Électroneurologie : signaux électriques (EEG) et magnétiques (MEG)

Bernard Renault

Directeur de recherche au CNRS, Directeur CNRS UPR 640-LENA

Neurosciences cognitives et imagerie cérébrale

Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris

Imagerie médicale : les techniques photoniques

Serge Mordon

Directeur de recherche à l'Inserm

UPRES EA 2689 Inserm IFR 114

CHU de Lille, Pavillon Vancostenobel, Lille

Lasers, outils diagnostiques : exemple d'application à la détection des caries dentaires

Sigrid Avrillier

Laboratoire de physique des lasers

Université Paris XIII, Villetaneuse

Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)

Chrit Moonen

Directeur de recherche au CNRS

UMR 5536 CNRS

Université Victor Segalen Bordeaux 2, Bordeaux

Les ultrasons : applications médicales

Léandre Pourcelot

Professeur des universités

Unité Inserm 316

Service de médecine nucléaire et ultrasons

CHRU Bretonneau, Tours

Modèles animaux et imagerie

Frédéric Pain

Maître de conférences des universités

Groupe Interface Physique-Biologie

Institut de Physique Nucléaire d'Orsay

Université Paris XI, Orsay

Laboratoires sur puces :

physique et chimie dans les coulisses de la révolution génomique

Jean-Louis Viovy

Directeur de recherche au CNRS

Équipe physico-chimie et séparation de l'ADN

Institut Curie, Paris

Les biomatériaux : des matériaux doublement exigeants

Charles Baquey

Directeur de recherche à l'Inserm

Responsable de l'unité Inserm 443 (Biomatériaux et Réparation Tissulaire)

Université Victor Segalen Bordeaux 2, Bordeaux

Ultrasons : de la physique fondamentale à la médecine

Pascal Laugier

Directeur de recherche au CNRS

Laboratoire d'Imagerie Paramétrique UMR 7623

Université Pierre et Marie Curie Paris 6, Paris

Imagerie par impulsions laser ultracourtes

François Amblard

Directeur de recherche au CNRS

Laboratoire de Physico-Chimie

Institut Curie, Paris

Tirer et tordre une molécule d'ADN ou comment regarder une enzyme travailler

Vincent Croquette

Directeur de recherche au CNRS

Laboratoire de Physique Statistique

École Normale supérieure, Paris

Traitement des cancers par les radiations ionisantes

Jacques Balosso

Maître de conférences des universités– Praticien hospitalier

Service de cancérologie - radiothérapie

CHU de Grenoble

Hadronthérapie par ions légers : état du projet ETOILE

Joseph Remillieux

Professeur des universités

Président du Conseil Scientifique de l'Université Claude Bernard Lyon 1

Institut de Physique Nucléaire de Lyon, Villeurbanne

L'imagerie TEP en hadronthérapie

Dominique Sappey-Marinier

Maître de conférences des universités - Praticien hospitalier

Centre d'Exploration et de Recherches Médicales par Émission de Positons

Université Claude Bernard Lyon 1

Hôpital Neurologique, Lyon

Évaluation et gestion des risques liés aux méthodes physiques d'investigation

André Aurengo

Professeur des universités - Praticien hospitalier

Chef du Service de Médecine Nucléaire

Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris

Liste des contributions

Certains titres des contributions peuvent différer quelque peu des titres des conférences correspondantes présentées à l'école.

Christophe CHAMPION

Interaction des ondes et des particules avec la matière biologique p. 1

Jean Louis COATRIEUX

Les signaux du vivant et leur interprétation p. 31

Albert LISBONA et Bernard AUBERT

Le scanner : Principe – Technologie – Applications p. 41

Jean Philippe VUILLEZ

Médecine nucléaire : gamma-caméra et caméra à positons p. 57

Suzanne NAUDY

La Physique Médicale : Débouchés et Métiers p. 69

Bernard RENAULT et Line GARNERO

L'imagerie fonctionnelle EEG-MEG : principes et applications p. 71

Serge MORDON

Imagerie médicale : les techniques photoniques de l'UV aux IR p. 87

Sigrid AVRILLIER

Lasers, outils diagnostiques :
exemple d'application à la détection des caries dentaires p. 105

Chrit MOONEN

Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) p. 107

Léandre POURCELOT

Les Ultrasons : Applications médicales p. 109

Frédéric PAIN

Modèles animaux et Imagerie p. 117

Jean-Louis VIOVY

Laboratoires sur puces :

physique et chimie dans les coulisses de la révolution génomique ... p. 129

Charles BAQUEY

Les biomatériaux : des matériaux doublement exigeants p. 131

*Pascal LAUGIER, Michael TANTER,
Emmanuel BOSSY et Jean-François AUBRY*

Ultrasons : de la physique fondamentale à la médecine p. 133

François AMBLARD

Imagerie par laser à impulsions ultracourtes :

Pourquoi deux photons valent mieux qu'un ? p. 149

*V. CROQUETTE, G. CHARVIN, J-F. ALLEMAND, G. LIA,
T. LIONNET, O. SALEH, H. YOKOTA, N. DEKKER,
M-N. DESSINGES et D. BENSIMON*

Action d'une protéine sur une molécule unique d'ADN p. 163

Jacques BALOSSO

Traitement des cancers par les radiations ionisantes p. 181

Joseph REMILLIEUX et Marcel BAJARD

Hadronthérapie par faisceaux d'ions légers : le projet ETOILE p. 191

Dominique SAPPEY-MARINIER

L'imagerie TEP en hadronthérapie p. 217

André AURENGO

Évaluation et gestion des risques

liés aux méthodes physiques d'investigation p. 225

Interaction des ondes et des particules avec la matière biologique

Christophe CHAMPION

Laboratoire de Physique Moléculaire et des Collisions

Institut de Physique de Metz

Université de Metz, Technopôle 2000, Metz

mél : champion@ipc.sciences.univ-metz.fr

Comprendre le comportement de la matière biologique soumise à une irradiation demeure encore aujourd'hui un souci majeur pour la communauté scientifique, aussi bien pour les physiciens que pour les biologistes. Qu'il soit de nature électromagnétique, électronique ou ionique, un rayonnement induit dans la matière des dépôts d'énergie parfois très importants et extrêmement localisés. De plus, l'interaction d'un rayonnement avec le milieu étant par nature non déterministe (stochastique), les prévisions thérapeutiques peuvent devenir très délicates, et l'on comprend dès lors l'attente des cliniciens qui, désireux de léser les cellules malignes sans détruire les cellules saines situées en amont, cherchent à optimiser les dépôts d'énergie radio-induits. Que ce soit à des fins thérapeutiques ou préventives (mesure des risques encourus par les personnes travaillant dans les centrales nucléaires ou encore par les cosmonautes lors de sorties spatiales), les conséquences biologiques d'une exposition à un rayonnement restent encore aujourd'hui mal maîtrisées. Et bien que l'étape post-irradiation, dite « étape physique », ne dure que quelque 10^{-12} seconde, elle n'en constitue pas moins le chaînon initiateur d'une longue séquence d'événements chimiques puis biologiques qui, en définitive, peut entraîner une modification du patrimoine génétique (on parle alors d'aberrations chromosomiques) ou encore la mort de la cellule (on parle d'inactivation cellulaire). Cependant, entre l'interaction proprement dite du rayonnement avec la cellule et l'apparition des effets biologiques, il se produit toute une suite d'événements que l'on peut répartir en 5 grandes étapes de durées inégales [1] :

-Une première étape « physique » très courte ($t < 10^{-15}$ s) qui correspond aux tout premiers instants post-irradiation.

-Une étape physico-chimique (10^{-15} s $< t < 10^{-12}$ s) au cours de laquelle les différents produits de l'interaction atteignent la température du milieu : c'est le processus de thermalisation qui conduit à la formation de produits radicalaires tels que OH^\bullet , H^\bullet ainsi que d'électrons thermalisés puis hydratés e^-_{aq} .

-Pour des temps (10^{-12} s $< t < 10^{-6}$ s) compris entre la picoseconde et la microseconde le milieu irradié se trouve dans une phase de chimie pure au cours de laquelle les différentes espèces créées diffusent et réagissent entre elles. À la microseconde qui suit l'interaction, la distribution des espèces présentes a ainsi atteint un état stationnaire au sein du milieu : le système entre dans une étape biologique.

-Celle-ci débute par une phase que l'on qualifie de biochimie pendant laquelle les espèces radicalaires produites altèrent chimiquement les biomolécules présentes dans le milieu environnant et entraînent leur dégradation.

-Finalement on atteint l'étape biologique : les dégâts produits tout au long de cette longue chaîne d'événements sont pris en charge par le système de réparation

interne à la cellule. Cette réparation (plus ou moins fidèle) peut durer plusieurs heures et se traduit en définitive par l'apparition ou non de lésions moléculaires graves.

Dans ce qui suit, nous allons nous intéresser à l'interaction entre les rayonnements et la matière biologique. Qu'ils soient électromagnétiques ou particuliers, les différents types de rayonnements seront étudiés afin de comprendre en détail les processus collisionnels mis en œuvre lors de l'exposition de la matière (biologique ou non) à une irradiation. Nous aborderons notre étude par la recherche d'une classification adéquate des différents rayonnements afin de mettre en évidence le plus clairement possible l'impact biologique de chacun. Dans un second temps, l'ensemble du spectre électromagnétique et des rayonnements particuliers sera passé en revue en terme de processus d'interaction, afin de souligner les nombreuses voies possibles dont dispose tout rayonnement pour transférer de l'énergie à la matière. Dans une troisième partie, nous nous intéresserons aux conséquences biologiques de telles irradiations, qu'elles soient ionisantes ou non. Enfin, une étude des interactions entre ondes et particules avec la matière biologique ne serait pas complète sans aborder le cas des ondes sonores, ce qui sera fait dans une dernière partie largement consacrée aux effets biologiques des ultrasons.

I - Classification des rayonnements

Une première façon de classer les rayonnements serait d'opposer les rayonnements électromagnétiques aux rayonnements particuliers. Alors que les premiers, émis par la matière (essentiellement par des transitions électroniques dans les atomes), peuvent être considérés comme de l'énergie cinétique à l'état pur, les seconds sont formés de particules matérielles douées de masse au repos. Il en résulte que les processus physiques mis en jeu lors de l'interaction de chacun avec la matière vont différer tant du point de vue de la collision proprement dite que du dépôt d'énergie consécutif. Cependant la classification rayonnement électromagnétique/particulaire repose sur des concepts physiques. Il va de soi que pour le biologiste soucieux de connaître les dommages radio-induits, il serait plus intéressant d'opposer les rayonnements selon leurs effets sur la matière biologique. On a alors été amené à séparer les *rayonnements ionisants*, dont l'énergie est suffisante pour arracher un électron à la structure moléculaire biologique, de ceux qui ne le peuvent pas, appelés *rayonnements non-ionisants*. L'énergie d'ionisation des principaux constituants de la matière biologique étant de l'ordre de 13,6eV (H : 13,54eV, N : 14,24eV, C : 11,24eV et O : 13,57eV), il est apparu judicieux de prendre cette valeur comme valeur seuil, ce qui justifie que l'on dénomme comme radiations non-ionisantes toutes les radiations électromagnétiques d'énergie inférieure à 13,6eV, c'est-à-dire les ondes radioélectriques, la lumière ultraviolette, visible et infrarouge. Cette dénomination pourrait en principe s'appliquer aussi à des particules matérielles de très faible énergie. En fait, de tels rayonnements n'ont aucun intérêt pratique. Il en résulte que cette classification oppose d'une part les rayonnements électromagnétiques UV, visibles et infrarouges, d'autre part

les rayonnements électromagnétiques (X et γ) et les rayonnements particulaires qui constituent l'ensemble des rayonnements ionisants. Le plan de l'article proposé sera calqué sur cette classification.

II - Interaction des rayonnements ionisants avec la matière

En médecine et en biologie, les rayonnements ionisants rencontrés sont principalement constitués soit par des particules matérielles chargées (électrons, protons, deutons, ...) ou neutres (neutrons), soit par des photons (essentiellement les rayons X et γ). Ces rayonnements ionisants ont en commun la propriété de provoquer des ionisations dans les milieux matériels où ils pénètrent, c'est-à-dire l'éjection d'un ou plusieurs électrons de l'édifice atomique ou moléculaire rencontré. Les ionisations sont à l'origine des effets utilisés pour la détection des rayonnements (compteurs de particules, dosimètres, ...), comme à l'origine des effets biologiques constatés sur les milieux vivants, comme il en sera question dans les sections suivantes. En effet, l'interaction entre un rayonnement et la matière se traduit par un transfert d'énergie, ce dernier représentant la première étape de l'action biologique des rayonnements [2]. De plus, une interaction est nécessaire pour détecter un rayonnement, d'où l'importance de cette notion en imagerie diagnostique.

1. Interaction des particules chargées lourdes (ions) avec la matière

Une particule chargée passant au voisinage d'un atome peut interagir avec un des électrons ou avec le noyau de l'atome. Le transfert d'énergie s'accompagne d'une perte d'énergie cinétique ΔE pour la particule incidente. Cette énergie se retrouve sous la forme d'un éventuel changement d'état de l'atome cible (ionisation, excitation) et de l'émission éventuelle de rayonnements électromagnétiques assurant un bilan énergétique équilibré.

a) Nature de l'interaction

Une particule chargée pénétrant dans un milieu, interagit avec les atomes du milieu et se ralentit. La force d'interaction dominante est la force coulombienne entre la particule incidente, chargée positivement, et les électrons atomiques, chargés négativement. Les interactions avec les noyaux, que ce soit par l'intermédiaire des forces coulombiennes ou des forces nucléaires, sont exceptionnelles (environ 10^8 fois moins fréquentes qu'avec les électrons) et peuvent être négligées dans le processus de ralentissement. On distingue alors trois processus d'interaction majoritaires:

-Si l'interaction est assez intense, le transfert d'énergie peut être suffisant pour arracher un électron de l'atome auquel il était lié : c'est le phénomène

d'*ionisation*. Il y a création d'une paire d'ions (ion positif et électron) dans le milieu.

-Si l'interaction est insuffisante pour créer une ionisation, il y a seulement *excitation* : l'électron change d'état quantique, l'excitation le fait passer d'un état initial, d'énergie de liaison E_0 , à un état final moins lié, d'énergie E_1 .

-Un troisième type de processus concerne la *capture électronique* au cours de laquelle le projectile capture, sur une de ses orbitales externes, un électron de l'atome cible.

Dans le cas où l'énergie transférée est notablement supérieure à l'énergie de liaison de l'électron, celui-ci peut être à son tour responsable d'autres excitations ou ionisations. Ces électrons secondaires énergétiques sont appelés rayons delta, et représentent une façon indirecte pour la particule chargée de transférer son énergie au milieu. Pour les particules chargées lourdes, l'ionisation et l'excitation des atomes ou des molécules sont pratiquement les seules causes du ralentissement. Elles s'accompagnent d'un changement d'état des atomes concernés : ce sont des *collisions inélastiques*. L'énergie ΔE transférée à l'électron lors d'une collision peut être comprise entre zéro et une valeur ΔE_{\max} , observée dans un choc frontal et calculée en exprimant la conservation de l'énergie et de la quantité de mouvement, dans le cadre de l'approximation d'un électron au repos. Cette énergie est donnée par la formule

$$\Delta E_{\max} = 4m_0M_1E_1/(m_0+M_1)^2$$

où m_0 est la masse au repos de l'électron, E_1 l'énergie cinétique et M_1 la masse au repos de la particule incidente. La masse de la particule lourde étant très supérieure à celle de l'électron ($> 10^3$), on peut écrire

$$\Delta E_{\max} \cong 4m_0E_1/M_1.$$

En fait, les très faibles transferts d'énergie sont beaucoup plus probables que les transferts d'énergie voisins de ΔE_{\max} parce que la probabilité de transfert varie en $1/(\Delta E)^2$. Le ralentissement des particules chargées lourdes s'effectue donc au cours d'un très grand nombre d'interactions à faible transfert d'énergie et leurs trajectoires peuvent être considérées comme rectilignes. Le ralentissement est un phénomène de nature statistique. La force coulombienne, dépendant de l'inverse du carré de la distance, a une portée infinie : il en résulte que la particule interagit simultanément avec un grand nombre d'électrons et perd ainsi graduellement et continûment de l'énergie le long de sa trajectoire. Cette propriété permet de traiter le ralentissement des particules chargées comme un phénomène continu.

b) Distribution spatiale des transferts d'énergie dans le milieu traversé

L'effet produit par un rayonnement sur un échantillon irradié (biologique ou non) dépend de la quantité d'énergie cédée au milieu, et plus précisément de la densité d'énergie absorbée [3]. On constate cependant que, à quantité égale d'énergie absorbée, l'effet produit dépend également de l'énergie du rayonnement et de sa nature : l'effet biologique est par exemple différent lorsque l'on considère des électrons et des particules α . Une manière de quantifier le transfert d'énergie d'une particule consiste à définir son TEL (Transfert d'Energie Linéique ou pouvoir d'arrêt lorsqu'il s'agit d'ions) : cette notion représente l'énergie moyenne transférée à la matière par unité de longueur de la trajectoire de la particule et s'exprime par exemple en keV/ μ m. Le TEL se définit donc comme : $\text{TEL} = -dE/dx$, et dépend d'une part des caractéristiques de la particule (son énergie, son nombre de masse A_{ion} et son numéro atomique Z_{ion} si c'est un ion) et d'autre part de la nature du milieu traversé. La figure 1 représente les variations du TEL en fonction de la vitesse de l'ion (V_{ion}).

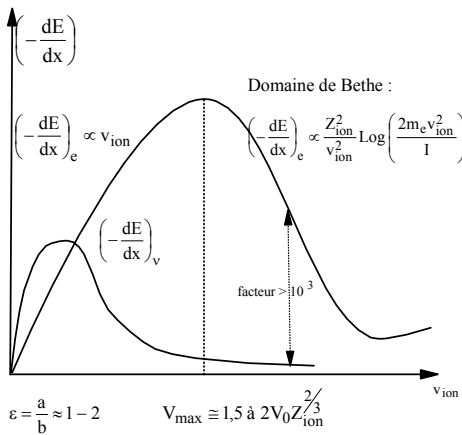


Figure 1 : Variation du TEL = $(-dE/dx)$ en fonction de la vitesse de l'ion incident. On a représenté la contribution élastique (pouvoir d'arrêt nucléaire $(-dE/dx)_v$) et la contribution inélastique (pouvoir d'arrêt électronique $(-dE/dx)_e$) [3].

On constate que, suivant le régime de vitesse considéré, la densité d'énergie (ou TEL) s'exprime différemment :

- Pour des vitesses grandes devant la vitesse des électrons (électrons cibles et électrons de l'ion), c'est-à-dire pour $V_{\text{ion}} \gg V_0 \cdot Z_{\text{ion}}^{2/3}$ (où V_0 est la vitesse de Bohr) : le TEL est donné par la formule de Bethe (figure 1).
- Pour des vitesses intermédiaires ($V_{\text{ion}} \approx V_0 \cdot Z_{\text{ion}}^{2/3}$) : le TEL passe par un maximum.
- Pour des vitesses faibles ($V_{\text{ion}} \ll V_0 \cdot Z_{\text{ion}}^{2/3}$) : la vitesse de l'ion est très faible devant la vitesse de tous les électrons : il y a réarrangement des niveaux électroniques au cours de l'interaction et formation d'une quasi-molécule. Des électrons passent de l'ion vers l'atome cible et

réciroquement : il y a échange de quantités de mouvement d'électrons proportionnel à V_{ion} ; il en résulte un TEL proportionnel à V_{ion} .

Jusqu'à maintenant, nous avons considéré les pertes d'énergie de l'ion par collisions inélastiques (on parle de pouvoir d'arrêt électronique) en occultant la partie collision élastique (de type ion-noyau) qui contribue au pouvoir d'arrêt nucléaire. Sur la figure précédente, nous avons représenté la contribution de ces pertes élastiques au pouvoir d'arrêt de l'ion, notée $(-dE/dx)_v$, la contribution des pertes inélastiques étant notée $(-dE/dx)_e$. On constate que les pertes d'énergie par collisions élastiques dominent le ralentissement de l'ion uniquement dans le régime des très faibles vitesses ($V_{ion} \ll V_0 \cdot Z_{ion}^{2/3}$), et deviennent négligeables au-delà. Elles sont plus précisément prépondérantes dans la région $\varepsilon = a/b \leq 1-2$, où ε est une variable réduite sans dimension définie à partir du rayon d'écran du potentiel d'interaction coulombien a et du diamètre de collision b (figure 1).

c) Parcours

Les particules chargées lourdes ont, dans la matière, une trajectoire pratiquement rectiligne. On appelle parcours R la longueur de cette trajectoire. La relation entre le parcours et le pouvoir d'arrêt est donnée par

$$R = \int_{E_{ion}}^0 dx = \int_0^{E_{ion}} \frac{dE}{(-dE/dx)} = \int_0^{E_{ion}} \frac{dE}{TEL}$$

Expérimentalement, on trace la courbe de transmission d'un faisceau parallèle de particules monoénergétiques en fonction de l'épaisseur x de l'écran absorbeur. On détecte un nombre de particules pratiquement constant jusqu'à ce que l'épaisseur de l'écran atteigne une valeur suffisante pour les arrêter complètement. Cependant, on remarque que les particules ne sont pas toutes arrêtées par une même épaisseur d'écran : il y a une certaine dispersion des parcours, due au processus aléatoire du ralentissement. Cette fluctuation est couramment appelée *straggling*. Le parcours moyen est défini comme étant l'épaisseur de l'absorbeur qui diminue de moitié le nombre de particules incidentes.

d) Courbe de Bragg

Une autre grandeur extrêmement importante au regard du biologiste est la courbe de Bragg qui représente l'ionisation spécifique moyenne, c'est-à-dire le nombre de paires d'ions créées par une particule d'énergie E_{ion} jusqu'à son arrêt complet dans la matière (grandeur directement proportionnelle au dépôt d'énergie) en fonction de la distance à la source. Elle est caractérisée par l'existence d'un maximum très prononcé précédant une chute brutale, montrant ainsi que le dépôt d'énergie est très localisé (figure 2). Cette caractéristique peut être mise à profit lors

d'irradiations de tumeurs extrêmement bien localisées et peu profondes comme les tumeurs de l'œil par exemple, et ce afin de détruire avec efficacité les cellules tumorales sans pour cela léser les cellules saines situées en amont du parcours de la particule ionisante.

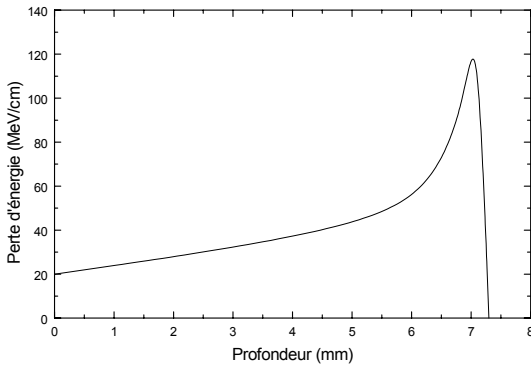


Figure 2 : Représentation schématique d'une courbe de Bragg pour des protons dans l'eau.

2. Interaction des particules chargées légères avec la matière

a) Électrons

Rappelons tout d'abord que la masse de l'électron est 1836 fois inférieure à celle du proton. Cette caractéristique empêche de transposer immédiatement les résultats précédents aux électrons. De plus, lors de leur interaction avec les électrons ou les noyaux du milieu traversé, les phénomènes de diffusion sont importants et, de ce fait, la notion de parcours devient extrêmement floue. La figure 3 représente la trace d'un électron de 5keV dans l'eau : chaque point représente une interaction avec une molécule d'eau.

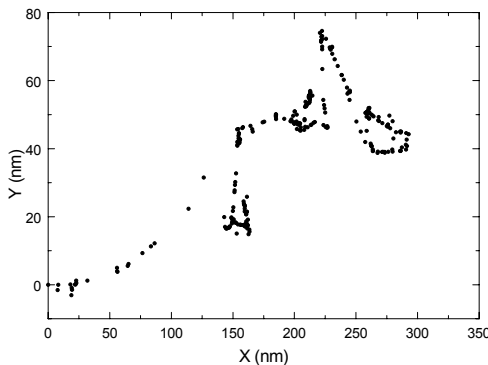


Figure 3 : Projection bidimensionnelle de la trace d'un électron de 5keV dans l'eau [3].

- Interaction avec les électrons de la cible

De la même façon que précédemment, on peut répertorier les interactions entre l'électron incident et les électrons de la cible en deux

grandes catégories : les interactions inélastiques au cours desquelles une partie de l'énergie initiale est transférée à la cible et les interactions élastiques au cours desquelles le transfert est exclusivement angulaire, l'énergie perdue étant dans ce cas extrêmement faible (figure 4). Il existe cependant des différences importantes avec ce qui a été dit dans les sections précédentes. En effet, ayant la même masse que les électrons atomiques avec lesquels il interagit, l'électron incident est fortement défléchi. La notion de trajectoire rectiligne n'est plus valable. De plus, une fraction importante de l'énergie de l'électron peut être perdue en une seule collision et l'énergie maximale transférable au cours d'une collision est égale à l'énergie de l'électron incident (E_{inc}). Cependant, après la collision, les électrons diffusé et arraché étant indiscernables, il est d'usage de qualifier l'électron le plus rapide de diffusé, et l'électron le plus lent d'éjecté. De ce fait, le transfert d'énergie est compris entre 0 et $E_{inc}/2$.

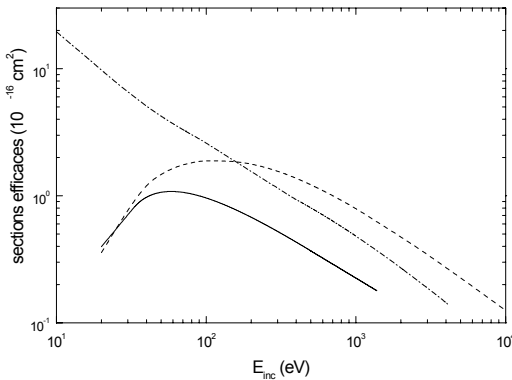


Figure 4 : Sections efficaces totales des interactions électron-molécule d'eau:

- diffusion élastique (trait discontinu),
- excitation électronique (trait plein)
- ionisation (pointillé) [3].

- Diffusion élastique sur les noyaux

Dans le champ coulombien d'un noyau de charge Ze , l'électron diffuse élastiquement mais sans perte d'énergie appréciable en raison de la grande différence de masses (rebondissement sur un obstacle fixe). La probabilité de diffusion augmente en Z^2 et est, pour un angle de diffusion donné, d'autant plus grande que l'énergie de l'électron est faible.

- Diffusion inélastique sur les noyaux : Bremsstrahlung

Un électron se déplaçant au voisinage d'un noyau est soumis à des forces d'accélération. En mécanique classique, quand une particule de charge électrique ze subit une accélération, elle rayonne de l'énergie sous forme d'une onde électromagnétique et se ralentit. La mécanique quantique lui fait correspondre l'émission de photons. L'accélération de la particule est $\gamma = zZe^2/Mr^2$, où M est la masse de la particule de charge Ze et r la distance entre les deux charges. On montre alors que l'énergie rayonnée est proportionnelle à γ^2 , c'est-à-dire inversement proportionnelle au carré de la masse. Le phénomène, négligeable pour les particules lourdes, ne l'est

plus pour les électrons compte tenu de leur faible masse. La fraction de l'énergie de l'électron émise sous forme de rayonnement de freinage (*Bremsstrahlung* qui vient de l'allemand *bremsen* signifiant freiner et *strahlen* rayonner) augmente avec l'énergie de l'électron et est favorisée dans les milieux absorbeurs de numéro atomique élevé (dépendance en Z^2). La contribution relative du Bremsstrahlung au ralentissement est ainsi de l'ordre de 0.3% pour des énergies de 1MeV pour atteindre 3% pour des énergies de 10MeV. Le spectre de photons émis est un spectre continu dont l'énergie maximale est égale à l'énergie cinétique des électrons. Cependant, l'énergie rayonnée par l'électron est surtout rayonnée en photons de faible énergie.

De la même façon que précédemment, on peut caractériser la perte d'énergie des électrons dans la matière par le biais d'un pouvoir d'arrêt ($-dE/dx$) qui tient compte d'une part de la contribution due à la collision proprement dite et d'autre part de la contribution due au rayonnement. On constate alors que la part du rayonnement ne devient effectivement importante que pour des énergies de l'ordre de ou supérieures à la dizaine de MeV.

Notons pour finir qu'il existe d'autres types de collisions entre un électron et la matière, comme par exemple :

- la rétrodiffusion, processus par lequel une fraction des électrons incidents est réfléchi dans la direction opposée au faisceau, qui est d'autant plus probable que l'énergie de l'électron est faible et que le numéro atomique des atomes du milieu est élevé,
- l'effet Cerenkov qui correspond à une émission de rayonnements électromagnétiques, dans la bande des longueurs d'onde visibles, par toute particule chargée traversant un diélectrique transparent d'indice de réfraction n avec une vitesse supérieure à la vitesse de la lumière c/n dans ce milieu. La particule rapide agit sur le milieu traversé en créant, au voisinage de la trajectoire, une polarisation électrique du milieu sous l'action du champ électrique qui se déplace avec la particule. C'est un effet local et temporaire lié au passage de la particule. Quand celle-ci s'éloigne, les atomes se dépolarisent en libérant l'énergie qui leur avait été fournie pour les polariser. En fait, l'énergie du photon émis se situant dans la gamme d'énergie 1,5-3eV, l'effet Cerenkov contribue peu au ralentissement de la particule.

b) Positons

L'interaction d'un positon dans la matière commence par une phase de ralentissement très rapide (3 à 6 picosecondes) au cours de laquelle il perd son énergie par les mêmes processus que l'électron et se comporte de façon similaire. Une fois thermalisé (énergie cinétique de quelques 10^{-2} eV), le positon continue sa pénétration dans la matière par une phase de diffusion au cours de laquelle il passe la plupart du temps dans les

régions interatomiques où il est repoussé par le potentiel positif des noyaux. En fin de diffusion, au bout de quelques centaines de picosecondes, il s'annihile avec un électron libre du milieu : la paire électron-positon disparaît. L'énergie correspondante, soit $1,022\text{MeV}$ ($2m_0c^2$), apparaît sous forme de deux photons, émis dans des directions opposées et emportant chacun une énergie de 511keV . Lors de ce processus, les principes de conservation de l'énergie, de l'impulsion et de la charge sont satisfaits.

3. Interaction des neutrons avec la matière

a) Généralités

Electriquement neutre, le neutron est un excellent projectile pour pénétrer dans les noyaux et provoquer des réactions nucléaires. Il n'est pas dévié de sa trajectoire par les électrons du cortège électronique et pénètre dans les noyaux sans être repoussé par la barrière coulombienne. De plus, compte tenu de la très faible proportion de volume occupé par le noyau par rapport au volume atomique, les chocs entre les neutrons et les noyaux sont peu probables. Aussi, et en cas de collision avec un noyau, le neutron, sauf cas particuliers, perd peu d'énergie à chaque choc. En conséquence, les neutrons comme les rayonnements gamma, sont beaucoup plus pénétrants que les particules chargées et peuvent traverser des épaisseurs importantes sans être arrêtés.

b) Classification des neutrons

Un grand nombre de réactions nucléaires produisent des faisceaux de neutrons. Les neutrons, à la différence des particules chargées, ne peuvent être accélérés mais peuvent être ralentis par chocs successifs sur des noyaux choisis pour cet effet. Ce processus de ralentissement est appelé modération et les noyaux « ralentisseurs » constituent le modérateur. On définit généralement trois types de neutrons :

- les neutrons rapides dont l'énergie cinétique E_n est supérieure à $0,8\text{MeV}$,
- les neutrons épithermiques : $1\text{eV} \leq E_n \leq 0,8\text{MeV}$,
- les neutrons thermiques : $E_n < 1\text{eV}$.

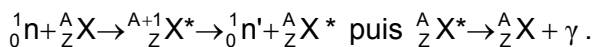
c) Différents types d'interaction

- La diffusion élastique

Dans ce type d'interaction, la structure interne du noyau n'est pas altérée. Le neutron incident est juste dévié de sa trajectoire initiale, l'interaction se réduisant à un simple transfert d'énergie cinétique. Ce type d'interaction constitue le principal mécanisme de perte d'énergie du neutron dans les domaines intermédiaire et rapide : ${}_0^1n + {}_Z^AX \rightarrow {}_0^1n + {}_Z^AX$.

- La diffusion inélastique

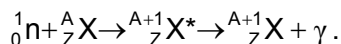
La diffusion inélastique s'effectue avec la formation d'un noyau intermédiaire appelé « noyau composé ». Le neutron incident est absorbé par le noyau cible formant ainsi un noyau composé qui se désintègre environ 10^{-17} s après, en émettant un neutron et en laissant le noyau résiduel dans un état excité. Le noyau résiduel revient à l'état fondamental par l'émission d'un ou de plusieurs photons. La réaction s'écrit donc



Dans une réaction de diffusion inélastique, la quantité de mouvement et l'énergie totale sont conservées, mais l'énergie cinétique, par contre, ne l'est pas. En effet, une partie de l'énergie cinétique du neutron incident est transformée en énergie d'excitation du noyau résiduel. La diffusion inélastique est donc une réaction à seuil : le neutron doit posséder une énergie cinétique suffisante pour exciter le noyau au moins jusqu'au premier niveau. Signalons enfin que la section efficace de diffusion inélastique augmente généralement avec l'énergie du neutron incident et avec la masse du noyau cible.

- La capture radiative

La capture radiative s'effectue également avec la formation d'un noyau composé par l'absorption d'un neutron incident. Le noyau ainsi formé possède une énergie d'excitation élevée qui est la somme de l'énergie cinétique du neutron incident et de son énergie de liaison dans le noyau composé. La désexcitation de ce noyau s'accomplit par l'émission d'un photon :



Le retour du noyau composé à son état fondamental peut s'effectuer par l'émission d'un seul photon très énergétique, ou progressivement par passage par des niveaux d'excitation intermédiaires, avec émission de plusieurs photons (on parle alors de cascade).

La capture radiative est de loin la réaction la plus importante des réactions d'absorption susceptibles de faire disparaître le neutron. Cette réaction sera donc utilisée en radioprotection, mais toute capture radiative est accompagnée d'émission de photons qui peuvent être assez énergétiques. Généralement, les sections efficaces de capture radiative varient, sauf exception aux énergies suffisamment éloignées d'une résonance, en $1/V$ où V représente la vitesse du neutron incident.

- Les réactions de capture type (n,p) et (n,α)

Dans ce type d'interaction, le noyau composé formé par l'absorption du neutron incident émet une particule chargée. Ces réactions se produisent plus facilement avec les noyaux légers qui opposent à l'émission d'une particule chargée une barrière coulombienne moins élevée. Les neutrons qui provoquent ces réactions possèdent généralement des énergies élevées, à l'exception des réactions (n,α) sur le ^{10}B et le ^6Li et des réactions (n,p) sur le ^{14}N et le ^{32}S , provoquées par les neutrons thermiques.

Exemple de réaction (n,α) : ${}_0^1\text{n} + {}_3^6\text{Li} \rightarrow {}_1^3\text{H} + {}_2^4\text{He} + 4.78\text{MeV}$

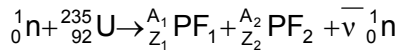
Exemple de réaction (n,p) : ${}_0^1\text{n} + {}_7^{14}\text{N} \rightarrow {}_1^1\text{p} + {}_6^{14}\text{C}$

- Les réactions de capture type $(n,2n)$

La désexcitation du noyau composé s'effectue par l'émission de deux neutrons. L'énergie de liaison moyenne des neutrons dans les noyaux est supérieure à 7,5MeV pour la plupart des noyaux et ces réactions nécessitent généralement des seuils d'énergie des neutrons incidents supérieures à 10MeV. Ce phénomène de production de neutrons peut devenir important avec certains noyaux.

- Les réactions de fission provoquées par les neutrons

La fission est une réaction nucléaire particulière. Elle peut être provoquée, assez facilement, par des neutrons d'énergie cinétique très faible sur certains noyaux lourds, mais l'énergie libérée est très élevée, généralement de l'ordre de 200MeV



où $\bar{\nu}$ représente le nombre moyen de neutrons émis au cours de la fission. Sous certaines conditions, lorsqu'un neutron est absorbé par certains noyaux lourds, ces derniers se cassent généralement en deux parties plus ou moins égales. Ces noyaux sont appelés produits de fission (PF). La réaction de fission est exoénergétique et est accompagnée par l'émission de deux ou trois neutrons, ce qui permet d'entretenir la réaction. Le tableau ci-dessous donne l'énergie cinétique seuil des neutrons nécessaire pour produire une réaction de fission.

Noyau	${}_{91}^{232}\text{Th}$	${}_{92}^{233}\text{U}$	${}_{92}^{234}\text{U}$	${}_{92}^{235}\text{U}$	${}_{92}^{238}\text{U}$	${}_{94}^{239}\text{Pu}$	${}_{94}^{241}\text{Pu}$
E_{seuil} (MeV)	1,05	0	0,28	0	1	0	0

On remarque que pour les noyaux d'uranium 233 et 235 et de plutonium 239 et 241, un neutron d'énergie cinétique nulle peut provoquer la réaction de fission de ces noyaux. Ils constituent donc des matériaux privilégiés pour l'obtention d'une réaction en chaîne auto-entretenue.

Le nombre moyen de neutrons émis lors de la réaction de fission ($\bar{\nu}$) est variable en fonction de l'énergie cinétique du neutron qui provoque la fission et de la nature de l'isotope fissile considéré. Le tableau ci-dessous donne les valeurs de $\bar{\nu}$ pour la fission de différents noyaux provoquée par des neutrons thermiques; l'énergie moyenne E des neutrons émis y est également indiquée.

isotope	^{233}U	^{235}U	^{239}Pu	^{241}Pu
$\bar{\nu}$	2,474	2,41	2,862	2,922
E (MeV)	1,97	2,00	2,06	2,02

4. Interaction des rayonnements électromagnétiques avec la matière

Notons tout d'abord que les rayonnements électromagnétiques auxquels nous nous intéressons ici peuvent être classés, suivant leur origine, en quatre catégories :

- rayonnements X caractéristiques émis lors de la désexcitation de l'atome,
- rayonnements γ qui accompagnent la désexcitation du noyau,
- photons qui résultent de l'annihilation d'un positon avec un électron,
- photons de freinage émis lors du ralentissement des électrons dans la matière.

Le comportement des rayonnements électromagnétiques dans la matière est fondamentalement différent de celui des particules chargées [4]. En une seule interaction, le photon peut être complètement absorbé et disparaître. Mais, à l'inverse, il est susceptible de traverser des quantités importantes de matière (par exemple un centimètre d'épaisseur de plomb) sans interagir du tout, ce qui est exclu pour les particules chargées qui, en pénétrant dans un milieu, cèdent immédiatement de l'énergie à un grand nombre d'électrons du milieu.

Parmi les différents processus possibles d'interaction des photons avec les électrons atomiques ou avec les noyaux, nous en étudierons trois qui jouent un rôle majeur. Ce sont : *l'effet photoélectrique*, *l'effet Compton* et *l'effet de production de paires*.

Il résulte de ces trois effets la mise en mouvement de particules secondaires (électrons, positrons) qui vont dissiper l'énergie qui leur a été transférée par le photon en ionisant et excitant la matière. À énergie égale,

et compte tenu des valeurs des sections efficaces des processus élémentaires mis en jeu, les photons ont dans la matière un pouvoir de pénétration bien supérieur à celui des particules chargées.

a) Les cinq interactions élémentaires

Les interactions entre les photons et la matière se font selon cinq mécanismes dont deux ont un intérêt médical important : l'effet photoélectrique et l'effet Compton.

- Effet photoélectrique

L'effet photoélectrique résulte du transfert de la totalité de l'énergie du photon incident sur un électron de l'un des atomes de la cible. Cet effet ne se produit que si l'énergie $E_v = h\nu$ du photon est supérieure à l'énergie de liaison E_L de l'électron. Ce dernier, appelé photoélectron, est alors éjecté du cortège électronique de l'atome avec une énergie cinétique $E_c = E_v - E_L$ et épuise son énergie cinétique en ionisations et excitations. L'énergie E_c est donc totalement absorbée dans la cible. L'électron expulsé laisse une place vacante qui va être comblée par les électrons de couches plus externes ou par un électron extérieur à l'atome. Ce remplacement s'accompagne d'une libération d'énergie E_R qui peut être :

- soit émise sous la forme d'un photon dit *photon de fluorescence*,
- soit communiquée à un électron périphérique d'énergie de liaison $E_P < E_R$. Cet électron appelé *électron Auger* est expulsé avec une énergie cinétique $E_R - E_P$. Ce phénomène, appelé *effet Auger*, entre en compétition avec l'émission d'un photon de fluorescence. L'effet Auger prédomine largement (jusqu'à 90%) pour les éléments légers des milieux biologiques.

On peut définir un *coefficient d'atténuation linéaire* lié à l'effet photoélectrique généralement noté τ . On montre alors que, pour un matériau de masse volumique ρ et de numéro atomique Z , le coefficient d'atténuation linéaire photoélectrique τ de photons d'énergie E_v vérifie la relation approchée de Bragg et Pierce : $\tau/\rho \approx (Z/E_v)^3$. En réalité, les variations de τ/ρ en fonction de E_v montrent des discontinuités qui correspondent aux énergies de liaison des électrons de la cible. Comme τ/ρ décroît très vite avec E_v et augmente rapidement avec Z , l'effet photoélectrique est surtout important pour les éléments lourds et les photons peu énergétiques.

- Effet Compton

L'effet Compton résulte de l'interaction entre un photon incident d'énergie $E_v = h\nu$ et un électron libre ou faiblement lié de la cible, dont l'énergie de liaison et l'énergie cinétique sont négligeables devant E_v . Au cours de cette interaction qui peut être décrite comme une collision,

l'électron, dit *électron Compton*, acquiert une énergie cinétique E_e et un photon diffusé, dit *photon de recul*, est émis avec l'énergie $h\nu'$ dans une direction faisant un angle θ avec la direction du photon incident. La conservation de l'énergie entraîne : $h\nu = E_e + h\nu'$. Les valeurs respectives de E_e et $h\nu'$ sont liées à θ par *les formules de Compton*, obtenues en écrivant la conservation de la quantité de mouvement et de l'énergie totale au cours de la collision. L'électron Compton est toujours projeté « vers l'avant » par rapport à la direction du photon incident, mais les photons de recul peuvent éventuellement être émis « vers l'arrière ». Plus l'énergie incidente est grande, plus les électrons Compton et les photons de recul se regroupent en moyenne autour de la direction du photon incident.

Comme pour l'effet photoélectrique, on peut définir un coefficient d'atténuation linéaire lié à l'effet Compton : σ . On montre que σ/ρ est pratiquement indépendant du matériau cible et décroît lentement quand l'énergie du photon incident augmente. L'effet Compton est donc d'autant plus important que le matériau cible est plus dense.

- Création de paires ou matérialisation

Ce processus se produit pour des photons très énergétiques passant à proximité d'un noyau : le photon incident se matérialise sous la forme d'un électron et d'un positon, de même masse m_0 et de même énergie cinétique E_e . Si E_v est l'énergie incidente, la conservation de l'énergie s'écrit : $E_v = 2m_0c^2 + 2E_e$. L'électron et le positon épuisent leur énergie cinétique en ionisations et excitations. À la fin de son parcours, le positon se combine à un électron en une réaction d'annihilation qui donne naissance à deux photons de 511keV émis dans des directions opposées. Le coefficient d'atténuation linéaire lié à la création de paires, noté π , croît approximativement comme le numéro atomique de la cible Z . Il est nul pour les valeurs de E_v inférieures à $2m_0c^2$ et ne devient important que pour des valeurs très élevées de E_v .

b) Importance relative des interactions élémentaires

Dans le domaine des énergies utilisées en médecine, les interactions entre les photons et la matière se font essentiellement par effet photoélectrique, par effet Compton et accessoirement par création de paires. Soit N_0 le nombre total de photons monoénergétiques arrivant sur l'écran par unité de surface et $N(x)$ le nombre de photons par unité de surface qui ont traversé une épaisseur x du matériau de l'écran sans être ni absorbés ni diffusés (on les appelle *photons transmis*).

On a alors : $N(x) = N_0 \cdot e^{-\mu x} = N_0 \cdot e^{-\tau x} \cdot e^{-\sigma x} \cdot e^{-\pi x}$, où μ est appelé coefficient linéaire d'atténuation (avec $\mu = \tau + \sigma + \pi$) et a les dimensions de l'inverse d'une longueur (μ s'exprime ordinairement en cm^{-1}). Sa valeur

dépend de la nature du matériau de l'écran et de l'énergie des photons considérés, et résulte des trois effets décrits précédemment. Les photons qui traversent un écran sans interaction sont ceux qui n'ont été l'objet d'aucun de ces trois effets. La figure 5 montre, en fonction de l'énergie du photon incident et du numéro atomique Z de la cible, les zones où prédomine tel ou tel effet.

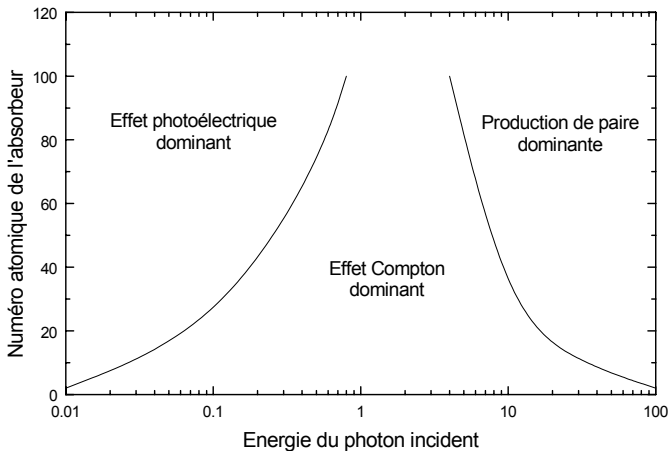


Figure 5 : Importance relative des trois effets en fonction de l'énergie du photon incident et du numéro atomique du milieu

c) Autres types d'interaction

- Diffusion de Thomson-Rayleigh

Au cours de ce processus, purement diffusif, le photon incident est absorbé par l'atome cible et réémis dans une direction différente, mais sans changement de longueur d'onde. Très importante pour les photons peu énergétiques (IR, visible, UV), la diffusion Thomson-Rayleigh est négligeable pour les photons X ou γ .

- Réactions photonucléaires

Ces réactions ne sont pas utilisées en médecine pratique, elles ne se produisent que pour des photons d'énergie très élevée (de l'ordre de 10 MeV).

III - Interaction des rayonnements non ionisants avec la matière

Rappelons que l'on entend par radiations non ionisantes les radiations électromagnétiques d'énergie suffisamment petite pour être incapables de provoquer l'ionisation de molécules d'intérêt biologique. En

pratique, cela suppose que le quantum d'énergie $h\nu$ est inférieur à une dizaine d'électronvolts et leur longueur d'onde dans le vide supérieure à 150nm. Elles comprennent donc en principe :

-les radiations ultraviolettes :

$100\text{nm} < \lambda < 400\text{nm}$, c'est-à-dire $3,1\text{eV} < h\nu < 12,4\text{eV}$,

-les radiations visibles :

$400\text{nm} < \lambda < 750\text{nm}$ c'est-à-dire $1,65\text{eV} < h\nu < 3,1\text{eV}$,

-les radiations infrarouges :

$750\text{nm} < \lambda < 1\text{mm}$ c'est-à-dire $1,2\text{meV} < h\nu < 1,65\text{eV}$,

-les ondes radioélectriques ou hertziennes (millimétriques, centimétriques (radar), puis ondes de radiodiffusion).

1. Absorption des radiations non ionisantes par la matière

Les radiations n'agissent sur la matière que dans la mesure où elles sont absorbées par celle-ci. Quand un atome ou une molécule absorbe un quantum, son énergie augmente. L'action des radiations dépend de la façon dont finalement cette énergie absorbée va être utilisée. Il importe donc de comprendre comment peut varier l'énergie d'un atome ou d'une molécule.

Abstraction faite de son énergie cinétique de translation, l'énergie d'un atome isolé ne dépend que de sa configuration électronique. Un électron pris à un niveau d'énergie donnée peut être transféré sur un niveau d'énergie plus grande. L'atome passe ainsi d'un état fondamental à un état excité. Son énergie est augmentée d'une quantité ΔE_e bien définie, correspondant à la différence d'énergie des deux niveaux. Seul un quantum d'énergie égal à ΔE_e pourra réaliser cette transition électronique. Le spectre d'absorption est donc un spectre discontinu ou spectre de raies. Il contient en général plusieurs raies car un atome a plusieurs façons d'être excité, chacune correspondant à un ΔE_e différent. Il faut également remarquer que pour le spectre d'absorption des radiations non ionisantes, seuls sont à considérer les électrons les moins liés de l'atome, c'est-à-dire les électrons de valence (ou électrons optiques).

Le cas d'une molécule est plus complexe. En effet, son énergie, toujours abstraction faite de son énergie cinétique de translation, peut-être considérée comme la somme de trois termes : l'énergie électronique ΔE_e (de l'ordre de quelques eV) qui ne dépend que de la configuration des électrons, l'énergie de vibration ΔE_v (de l'ordre de quelques $1/10^{\text{ème}}$ d'eV) qui correspond à la somme des énergies potentielle et cinétique associées aux vibrations des liaisons de la molécule autour d'une distance fixe, et l'énergie cinétique de rotation de la molécule autour de son centre de gravité notée ΔE_r (de l'ordre de quelques $1/100^{\text{ème}}$ d'eV). Chacune de ces trois énergies est quantifiée et ne peut donc varier que par sauts bien définis. Au total $\Delta E = \Delta E_e + \Delta E_v + \Delta E_r$. Chacun de ces trois termes ne prenant

qu'un nombre fini de valeurs distinctes, le nombre total de variations ΔE possibles reste fini : le spectre d'absorption d'une molécule est donc un spectre de raies, en général beaucoup plus complexe que celui des atomes. Ainsi, en considérant la gamme des radiations électromagnétiques par ordre d'énergie croissante à partir des ondes hertziennes, on en déduit que :

- dans l'infrarouge lointain : $\Delta E = \Delta E_r$,
- dans l'infrarouge proche : $\Delta E = \Delta E_v + \Delta E_r$,
- dans le visible ou l'ultraviolet : $\Delta E = \Delta E_e + \Delta E_v + \Delta E_r$.

Or, pour un même ΔE_e , plusieurs ΔE_v et ΔE_r sont possibles : il en résulte qu'une transition électronique peut donner naissance à un grand nombre de raies, alors que pour un atome isolé une transition électronique ne donne naissance qu'à une seule raie. Notons cependant que tout ce qui vient d'être dit ne concerne que des atomes ou des molécules isolés, sans interaction mutuelle. À l'état condensé, les spectres d'absorption sont modifiés, l'effet des interactions entre atomes ou molécules tendant à élargir les raies jusqu'à les rendre jointives et à transformer peu à peu une suite de raies très proches en une bande continue.

L'étude des spectres d'absorption moléculaire est d'un immense intérêt car on peut en tirer d'importants renseignements sur la structure des molécules : certains groupements atomiques bien déterminés, appelés *groupes chromophores*, absorbent sélectivement certaines longueurs d'onde : on peut par exemple montrer que l'absorption de l'ADN est due essentiellement aux bases pyrimidiques, car son spectre est extrêmement voisin du leur [5]. Ce caractère sélectif de l'absorption des radiations non ionisantes est tout à fait fondamental et constitue une différence essentielle avec les radiations ionisantes pour lesquelles l'absorption ne varie que lentement avec la fréquence.

2. Devenir de l'énergie absorbée

L'énergie absorbée peut se dissiper dans la matière via deux possibilités : elle peut soit induire des réactions chimiques (on parle alors de *photochimie*), soit être dégradée sous forme de chaleur ou réémise sous forme de photons.

a) Photochimie

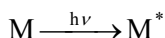
Du point de vue du photochimiste - et du photobiologiste - seules sont intéressantes les radiations capables d'amorcer une réaction chimique. Il importe donc de préciser dans un premier temps quelles sont ces radiations avant de décrire dans un deuxième temps les divers types de réactions photochimiques.

Une pure variation de l'énergie de rotation d'une molécule ne modifie pas la structure de celle-ci. L'apport d'énergie correspondant est de plus négligeable. *L'infrarouge n'a donc aucune action chimique.*

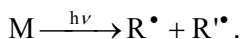
Une augmentation isolée de l'énergie de vibration augmente l'amplitude des oscillations atomiques, ce qui pourrait rendre la molécule plus fragile et par suite plus apte à réagir. Néanmoins, cette action est négligeable, à la température ordinaire du moins. En effet, les molécules occupent les niveaux vibrationnels les plus bas, c'est-à-dire ceux où la molécule est la plus solide. La probabilité de leur faire gravir un grand nombre d'échelons et de les amener à un état de dissociation est extrêmement faible. Ce n'est donc qu'aux températures élevées, où les molécules sont fragiles, que les rayonnements infrarouges peuvent déclencher des réactions photochimiques.

Finalement, seules les transitions électroniques - et les radiations qui les provoquent, visibles et UV - ont un intérêt photochimique.

Une molécule excitée selon le schéma :



a reçu une énergie importante, d'un ordre de grandeur comparable à celui d'une liaison chimique : sa réactivité est donc augmentée. De plus, très souvent, cette excitation s'accompagne d'une dissociation par rupture de liaison, selon une réaction dite *photolytique*, du type :



Les deux fragments R^\bullet et R'^\bullet emportent chacun un électron de la liaison covalente qui les unissait. Ce sont des *radicaux libres*, auxquels l'électron célibataire qu'ils portent confère une grande réactivité.

Au total, l'acte photochimique essentiel est l'excitation électronique, accompagnée ou non de dissociation.

b) Fluorescence ou conversion interne

L'énergie absorbée dans une molécule n'est pas forcément utilisée pour des réactions photochimiques. Elle peut se trouver dissipée sous forme de chaleur ou encore réémise sous forme de photons : c'est le phénomène de *fluorescence*, qui dure en général de 10^{-3} à 10^{-5} seconde.

Un autre destin de l'énergie est sa dissipation par un processus appelé *conversion interne* : la molécule passe par une transition non radiative d'un état excité à un niveau vibrationnel élevé de son état fondamental, de même énergie. À partir de là, son énergie se communique par chocs aux autres molécules, se dégradant ainsi en chaleur.

IV - Biologie des radiations

L'action du rayonnement sur l'ADN (qu'il soit ionisant ou non) est habituellement décrite en terme d'effets directs et indirects. Alors que les premiers concernent des dépôts d'énergie localisés sur un des constituants de l'ADN, les seconds résultent de l'absorption du rayonnement par l'environnement de l'ADN, provoquant la formation d'espèces radicalaires. Ces dernières diffusent et peuvent alors interagir chimiquement avec l'ADN. Il est aujourd'hui clairement reconnu que la principale entité sensible d'un organisme irradié est l'acide désoxyribonucléique (ADN) et que même si cette macromolécule est un polymère extrêmement complexe, tant du point de vue morphologique que physiologique, il est désormais admis qu'une lésion sur l'un de ses constituants est un phénomène majeur, déterminant, pour le devenir de la cellule irradiée. Cependant, selon la gravité des dommages au niveau cellulaire, le devenir de l'organisme irradié va différer : le système de réparation cellulaire peut alors opérer plus ou moins fidèlement et ainsi induire (ou non) des erreurs de réplication engendrant des aberrations chromosomiques.

1. L'ADN au sein de la cellule

a) L'ADN, cible privilégiée

Tout organisme vivant est constitué de cellules plus ou moins complexes qui forment l'entité structurale de base de l'organisation cellulaire. Pour les organismes complexes comme les mammifères, les cellules sont dites *eucaryotes* car elles possèdent un noyau cellulaire qui renferme toute l'information génétique, codée sous forme de gènes localisés sur une macromolécule : l'*acide désoxyribonucléique (ADN)*. À cause de la complexité d'un tel système, comprenant plusieurs centaines de molécules interagissant les unes avec les autres, envisager un processus universel de réactions cellulaires suite à une irradiation est inconcevable. Cependant, de nombreuses expériences [6] ont clairement mis en évidence que l'ADN situé à l'intérieur du noyau cellulaire représentait la cible privilégiée lors d'une irradiation, et que les dommages subis par cette macromolécule étaient corrélés au processus de mort cellulaire. Cela ne veut pas dire que seul l'ADN est lésé lors d'une irradiation : il y a bien entendu beaucoup d'autres molécules présentes dans l'organisme cellulaire qui vont être affectées par l'irradiation, mais elles sont normalement présentes en très grand nombre dans la cellule et remplacées par d'autres agents ayant les mêmes spécificités ou bien tout simplement resynthétisées par codage de l'ADN. Par contre, l'ADN, du fait de son unicité, acquiert un rôle essentiel dans la survie de la cellule, et un dommage non réparé (ou incorrectement réparé) risque d'affecter le fonctionnement de la cellule ainsi que sa reproductibilité. L'ADN, dont plus

de 95% se trouve à l'intérieur du noyau (dans le cas de cellules eucaryotes) renferme l'essentiel de l'information génétique.

b) L'ADN, une structure hélicoïdale

L'ADN est une double hélice dont chacune des chaînes est formée d'une alternance de sucres et de groupes phosphate. À chaque sucre est attachée l'une des quatre bases suivantes : adénine, guanine (l'une et l'autre faites de deux cycles : ce sont des *purines*), thymine, cytosine (l'une et l'autre sont des *pyrimidines* qui n'ont qu'un cycle). Des liaisons hydrogène assurent la stabilité de l'hélice et maintiennent unies les deux chaînes qui la constituent. Ces liaisons hydrogène unissent et relient une purine d'une chaîne à une pyrimidine de l'autre chaîne. C'est ainsi que l'adénine est reliée à la thymine, et que la guanine est reliée à la cytosine [7]. L'ADN présente une structure en double hélice d'un diamètre de 20Å, d'un pas de 34Å comprenant 10 paires de bases azotées. La composition en bases de l'ADN est caractéristique de chaque espèce, et toutes les cellules somatiques d'un organisme ont un ADN de même composition en bases : la cellule humaine contient par exemple $5,5 \cdot 10^9$ paires de bases, ou paires de nucléotides, réparties en

$$2n = 46$$

chromosomes. L'ADN ainsi constituée par une double chaîne peut alors aisément se spiraler et apparaître sous des phases plus ou moins condensées suivant la phase cellulaire dans laquelle il se trouve. On peut d'ailleurs remarquer que le contenu total en ADN des chromosomes humains représente 174cm d'ADN alors que la longueur totale de ces chromosomes mis bout à bout n'est que de 220µm.

2. Effets biologiques des rayonnements ionisants

Nous venons de voir que l'ADN joue un rôle primordial dans le devenir de la cellule irradiée. Suivant la gravité de la lésion, de son étendue, et de sa position sur le brin d'ADN, le devenir de la cellule va être différent. L'interaction d'un rayonnement avec la matière biologique est en fait l'initiateur d'une succession complexe de processus physiques, chimiques puis biologiques, qui aboutit à une réponse, plus ou moins tardive de la part de la cellule. Et si l'on connaît de façon assez satisfaisante les deux extrémités de la chaîne, il est encore aujourd'hui quasi impossible de suivre pas à pas la série de réactions qui relie les phénomènes physiques à leurs conséquences biologiques; une approche consiste cependant à comparer les effets biologiques induits par des radiations de qualités différentes, notamment l'induction de la mort cellulaire (transcrite en terme de *relation dose-effet*) via les courbes de survie cellulaire.

a) Les courbes de survie cellulaire

Pour chaque type cellulaire étudié, il est possible d'évaluer la fraction de cellules survivant à une irradiation, en fonction de la dose absorbée par le milieu traversé (quantité d'énergie absorbée par l'unité de masse du milieu traversé, qui s'exprime en Gray : 1 Gy = 1 J/kg) ou de la fluence du rayonnement utilisé (nombre de particules qui traversent l'unité de surface de l'échantillon irradié, qui s'exprime en nombre de particules/cm²) (figure 6).

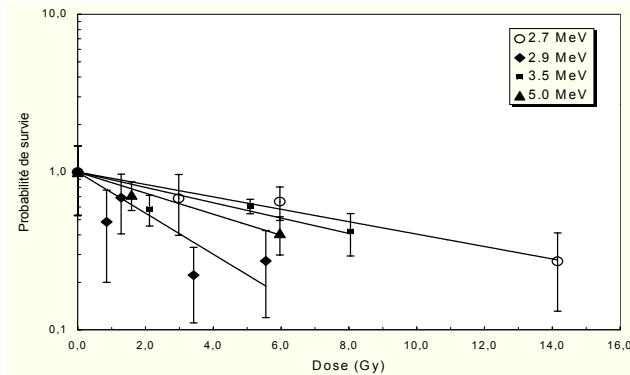


Figure 6 : Courbes de survie cellulaire correspondant à l'irradiation de cellules d'origine épithéliale (isolées de la trachée) de rat par des protons de différentes énergies [3].

Expérimentalement, il s'agit de déterminer la proportion de cellules qui ont continué à se diviser après l'irradiation. Le principe consiste donc à suivre sur plusieurs jours les échantillons cellulaires irradiés (communément 6 jours) et à dénombrer ceux d'entre eux qui ont donné naissance à des clones, c'est-à-dire généré des colonies d'au moins $2^6 = 64$ cellules. La forme de la courbe de survie dépend tout d'abord du spécimen biologique irradié (incluant des paramètres tels que sa morphologie, sa radiosensibilité,...), mais surtout de la qualité du rayonnement. La figure 6 représente un exemple de courbes de survie (en échelle semi-logarithmique) correspondant à des irradiations de cellules de trachée de rat par des protons de différentes énergies (2,7MeV, 2,9MeV, 3,5MeV et 5,0MeV).

b) Quantification de l'effet biologique : efficacité biologique relative et section efficace d'inactivation cellulaire

Pour quantifier les effets biologiques induits par différents types de rayonnements, on peut [8] :

-soit raisonner en termes de probabilité par particule de produire tel événement : on parle dans ce cas de *section efficace* (l'inactivation cellulaire en est un exemple, mais on parle aussi de section efficace pour l'induction d'aberrations chromosomiques, l'induction de cassures simples ou doubles de la molécule d'ADN,...),

-soit raisonner en termes d'efficacité d'un rayonnement (par rapport à un rayonnement de référence) pour induire le même effet biologique, par unité de dose : on parle alors d'*Efficacité Biologique Relative (EBR)*.

c) Les dommages d'ADN radio-induits

Suite à une irradiation, deux possibilités sont envisageables :

-si la lésion est majeure, et donc non réparable, l'irradiation va induire une mort cellulaire qui peut être immédiate pour des irradiations à doses élevées (plusieurs centaines de Gray) ou bien différée : on parle de *nécrose* ou d'*apoptose* (mort programmée).

-si l'atteinte est mineure, les enzymes réparatrices de la cellule peuvent agir et réparer la lésion; cependant, si la réparation n'est pas fidèle, la séquence de gènes du brin d'ADN lésé va être altérée et il y aura apparition de *lésions géniques* créant dans la cellule des *mutations géniques*. Ces dernières sont liées à la partie fonctionnelle du gène : au cours des divisions cellulaires ultérieures la cellule va modifier son patrimoine génétique. Notons que si la lésion est plus grave, et qu'elle induit une modification morphologique et non génique du chromosome, on parle d'*aberrations chromosomiques* (voir [9] pour une revue détaillée).

Un des problèmes majeurs de la radiobiologie est de pouvoir identifier les lésions moléculaires critiques de l'ADN, et en particulier de distinguer les lésions géniques (entraînant la formation de cellules mutantes) des lésions létales (qui, elles, induisent la mort cellulaire). Cependant, il est maintenant communément admis que les endommagements essentiels de la molécule d'ADN peuvent se répartir en deux groupes :

-les lésions qui concernent le squelette proprement dit de la macromolécule : ce sont des ruptures de la colonne sucre-phosphate liant les bases de l'ADN entre elles. On distingue les *cassures simple-brin (CSB)* correspondant à une unique lésion localisée sur un des brins de l'ADN des *cassures double-brin (CDB)* correspondant à deux cassures simples, chacune d'elles étant située en vis-à-vis sur un brin différent de l'ADN, toutes deux séparées d'une distance inférieure ou égale à une dizaine de paires de bases.

-les dégâts localisés sur les bases de l'ADN qui peuvent être altérées ou partiellement détruites lors de l'irradiation. Ces dommages sont de différente nature :

- la perte ou les altérations des sucres et des bases,
- les pontages interbrins, intrabrins,
- les pontages avec les protéines, les ajouts de différentes natures.

Toutes ces lésions, de complexité différente, et donc d'importance biologique différente, vont, suite à l'irradiation, être prises en charge par les systèmes de réparation de la cellule. Les mécanismes de réparation des

dommages induits par les radiations sont mal connus : on pense cependant que les lésions n'impliquant qu'un seul brin d'ADN sont généralement correctement réparées par simple réplication du brin opposé via la complémentarité des bases impliquées dans la lésion [10-13]. Par contre, en ce qui concerne les cassures double-brin, de nombreux auteurs avaient suggéré, dès 1980 [14-16], le rôle prépondérant de la CDB, et identifié ce type de dommage comme événement critique au niveau moléculaire. Une réparation incorrecte de ce type de lésion est déterminante pour le devenir cellulaire, aussi bien à court terme (mort cellulaire) qu'à long terme (induction de mutations et/ou d'aberrations chromosomiques).

3. Effets biologiques des rayonnements non ionisants

Parmi les composants de la matière vivante, seuls les composés organiques non saturés méritent d'être considérés en pratique. Les autres ont une absorption négligeable, au moins dans le domaine de longueurs d'onde supérieures à 220nm. En particulier, contrairement aux radiations ionisantes, les effets sur l'eau (effets indirects) ne méritent pas considération. Celle-ci n'absorbe pratiquement pas au-dessus de 185nm.

Parmi les composés organiques non saturés, les plus importants sont ceux qui ont des doubles liaisons conjuguées : cycles benzéniques, cycles contenant un ou deux atomes d'azote : ils absorbent dans le domaine de l'U.V. lointain. Nous retiendrons ici l'action des radiations non ionisantes sur les protéines d'une part, sur les nucléotides et acides nucléiques d'autre part.

a) Action sur les protéines

L'absorption totale d'une protéine est très comparable à la somme des absorptions de ses composants (les groupes chromophores étant principalement les liaisons peptidiques et les groupes tryptophane et la tyrosine), ce qui plaide en faveur de la faiblesse des interactions entre aminoacides au sein des protéines. Le pic principal se trouve aux alentours de 280nm. Une des actions essentielles des ultraviolets est la dénaturation de celles-ci, en particulier la disparition de leur action enzymatique. On sait que celle-ci est étroitement liée à la configuration spatiale des molécules protéiques, c'est-à-dire à leur structure tertiaire.

b) Action sur les acides nucléiques

Les acides nucléiques sont des absorbants très énergiques de l'U.V. dans la région 240-290nm. À poids égal, ils absorbent 10 à 20 fois plus que les protéines. Ceci n'a rien de surprenant car toutes les bases sont riches en doubles liaisons conjuguées et suffisent à expliquer l'absorption de l'ADN.

c) Photochimie des acides nucléiques

Toute la photochimie des acides nucléiques s'explique par l'action des U.V. sur les bases : sur la thymine et la cytosine pour l'ADN, sur l'uracile et la cytosine pour l'ARN. Un premier effet observé est l'hydratation des pyrimidines. Un deuxième effet, sans doute le plus important, est la formation de dimères, spécialement avec la thymine. Au total, la molécule d'ADN peut être profondément remaniée par une irradiation U.V. : certaines liaisons hydrogène se trouvent rompues par hydratation de la cytosine ou par dimérisation de thymines adjacentes; d'autres liaisons sont remplacées par des liaisons covalentes plus énergétiques (par dimérisation de thymines appartenant à des chaînes différentes); la chaîne peut se trouver rompue entre un sucre et un groupe phosphorique; enfin, une chaîne d'ADN peut se trouver fixée à d'autres molécules d'ADN ou même de protéines.

Tout ce qui vient d'être dit concernant la photobiologie cellulaire, on peut maintenant s'interroger sur l'impact des radiations non ionisantes au niveau cellulaire. En fait, les rayons lumineux et ultraviolets ayant une pénétration très faible dans la matière, leurs effets ne se font sentir que sur les micro-organismes (virus, bactéries) ou sur les tissus tout à fait superficiels (*effets cutanés* comme l'érythème, la pigmentation, la cancérisation..., *effets oculaires* comme le « coup de soleil »). Les doses de rayonnements non ionisants s'expriment en énergie incidente par unité de surface. Cela oppose les radiations non ionisantes aux radiations ionisantes pour lesquelles les doses considérées sont les doses absorbées. Malgré cette différence, les résultats d'une étude photobiologique s'expriment de façon analogue à ceux d'une expérimentation radiobiologique : au moyen de courbes effet-dose.

De façon analogue également, on doit apprécier le rôle de la répartition dans le temps des doses de rayonnement. Mais ici apparaît une nouvelle différence essentielle entre radiations ionisantes et radiations non ionisantes, ces dernières montrant en effet une sélectivité qui s'exprime au moyen d'une courbe appelée *spectre d'action* qui met en évidence les longueurs d'onde les plus efficaces pour obtenir un effet donné, parfaitement défini. L'intérêt du spectre d'action étant de pouvoir le comparer au spectre d'absorption de certains composants de l'échantillon irradié et de rechercher ainsi le composant responsable de l'effet obtenu. On dispose ainsi d'un moyen de recherche biochimique et physiologique particulièrement efficace.

V - Interaction des ultrasons avec la matière biologique

1. Définition

Sur l'échelle des fréquences, on distingue les infrasons (de fréquence inférieure à 20Hz) des sons audibles (de fréquence comprise entre 20Hz et 20kHz), les ultrasons étant caractérisés par des fréquences supérieures à 20kHz.

Les ultrasons ont de nombreuses applications en physique-chimie, en technologie et en médecine. Les ondes ultrasonores sont utilisées depuis longtemps pour la détection et la communication sous-marines dans les sonars, très employés pour la navigation.

2. Principes physiques

En physique, les ultrasons servent à déterminer certaines propriétés de la matière telles que la compressibilité, les chaleurs spécifiques et les constantes élastiques. Les ultrasons permettent de réaliser des émulsions, telles que le lait homogénéisé. On les utilise également pour détecter les défauts de certains matériaux. Les ultrasons dont les fréquences sont de l'ordre du GHz peuvent être utilisés pour obtenir un « microscope acoustique », capable de visualiser des détails inférieurs à 1µm.

3. Principes biologiques

Les effets des ultrasons ne sont pas encore complètement élucidés mais il est clair, cependant, qu'ils ont des effets sur les tissus organiques. On remarque que l'énergie mécanique est convertie en énergie thermique.

a) Effet mécanique

Les vibrations provoquent dans les tissus des compressions alternées à des expansions selon une périodicité correspondant à leur fréquence, ce qui cause des variations de pression. Cet effet mécanique provoque de véritables micro-massages qui peuvent aboutir à une dilacération des fibres du tissu conjonctif. Cet effet est appelé, effet *fibrolytique* ou *scérolitique*, mis à profit dans le traitement des adhérences et des cicatrices.

b) Effet thermique

La mesure de la température de la peau et du tissu sous-jacent montre qu'elle augmente au niveau du territoire soumis aux vibrations ultrasonores. Elle s'accompagne évidemment d'une *vasodilatation* c'est-à-dire d'une augmentation du calibre des vaisseaux sanguins. Simultanément à cette augmentation de la température, se produit une modification de la perméabilité des membranes. L'effet thermique résulte des frictions moléculaires provoquées par les vibrations. La modification de perméabilité des membranes s'explique par ces mobilisations moléculaires.

Les réactions thermiques se produisent essentiellement aux sites de réflexion (c'est-à-dire aux niveaux des plans de séparation). Du fait des différences de coefficient d'absorption, des réflexions et des interférences, la production de chaleur dans le champ d'action des ultrasons n'est pas homogène. On compense cette absence d'homogénéité par un déplacement continu du projecteur. Il y a production de chaleur en particulier dans le tissu osseux, les cartilages, les tendons, le tissu musculaire et la peau.

c) Effet antalgique

La conductibilité nerveuse peut subir un ralentissement voire une interruption momentanée. Ceci s'expliquerait par une dépolarisation des fibres nerveuses afférentes due à l'effet thermique. Par contre l'effet des ultrasons sur le système nerveux central est assez néfaste. Il apparaît que le système nerveux central est très sensible aux ultrasons, on peut observer des lésions allant jusqu'à destruction complète.

d) Effet destructeur

L'application des ultrasons, non plus sur un tissu humain, mais *in vitro*, fait apparaître, à condition d'augmenter considérablement la puissance par cm^2 , un effet destructeur important, avec libération de bulles gazeuses dans les tissus : c'est le phénomène de *cavitation*.

4. Utilisation des ultrasons en médecine

a) Imagerie médicale

D'un point de vue général, on entend par imagerie médicale l'ensemble des techniques permettant de visualiser une partie du corps humain ou d'un organe et d'en conserver une image, dans l'objectif de réaliser un diagnostic, de guider un geste thérapeutique tel qu'une ponction, ou de suivre à moyen terme les résultats d'un traitement.

Dans le domaine de l'imagerie médicale, deux facteurs ont considérablement contribué à développer les procédés : la mise en œuvre d'un grand nombre de traitements divers et ensuite l'évolution des techniques de l'instrumentation, due aux progrès de la micro-électronique, ce qui a entraîné :

- l'amélioration de l'image,
- l'amélioration du rapport signal/bruit,
- des facilités d'extraction de l'information,
- une meilleure reconnaissance des formes.

L'échographie utilise la réflexion des ultrasons par les organes. Lorsque les ondes ultrasonores atteignent un tissu, elles sont réfléchies en fonction de la densité et de l'élasticité du tissu. Le plus souvent, il s'agit d'échotomographie, fournissant des images en coupe. Avec un scalpel ultrasonique, un chirurgien peut pratiquer une incision plus fine qu'avec un scalpel conventionnel. De telles techniques sont utilisées pour la chirurgie du cerveau et de l'oreille.

b) Thérapie par ultrasons

Du point de vue thérapeutique, on peut retenir deux applications principales des ultrasons :

-La première, peu originale, constitue une thermothérapie qui se distingue de celle produite par les infrarouges et même par les ondes électromagnétiques, par une profondeur d'action plus grande. La thermothérapie par ultrasons, également thermothérapie par conversion, présente la forme la plus profonde d'application de chaleur.

-La seconde propriété, tout à fait spécifique des ultrasons, est représentée par son action fibrolytique, qui résulte de ce micro-massage profond exercé dans les milieux biologiques. L'affinité particulière des ultrasons pour les processus inflammatoires ou dégénératifs péri-articulaires, tendineux ou aponevrotiques, relève probablement de cette propriété.

La pénétration dans les tissus dépend de deux éléments :

- La fréquence des ultrasons

Aux fréquences élevées, la pénétration est moins profonde. À une fréquence de 1GHz, la demi-distance de pénétration dans les tissus (distance parcourue par le rayonnement pour perdre la moitié de son intensité) est d'environ 5cm contre 1,5cm pour une fréquence de 3GHz.

- La perméabilité ou l'impédance acoustique des tissus

La perméabilité aux ultrasons diffère d'un milieu à un autre. Les ultrasons traversent mieux les tissus cutanés que les muscles, qui les absorbent davantage. Cette perméabilité musculaire est liée à leur structure et à leur contenu protéique. Les muscles bénéficient donc d'un réchauffement privilégié.

Conclusion

Lorsqu'un rayonnement pénètre dans la matière, que celle-ci soit inerte ou vivante, il peut agir avec les atomes rencontrés, et perdre à chacune de ces interactions une partie de son énergie : c'est l'affaire d'une

infime fraction de seconde (de quelques femto-secondes). Cette énergie cédée sur place est transférée au milieu traversé, ce qui peut se traduire par des ionisations (arrachement d'électrons) ou encore des excitations transitoires des atomes concernés, les premières induisant des modifications structurales de la matière.

Dans un organisme vivant, l'ADN est un constituant important des cellules. Environ cinquante milliards de kilomètres d'ADN se trouvent en effet accumulés dans le noyau des quelques cinquante mille milliards de cellules d'un organisme humain. Cette molécule d'ADN, célèbre par sa structure à deux brins complémentaires organisée en double hélice, constitue le support de l'information génétique, d'où l'importance de son intégrité. Elle est comparable à un livre dont les phrases, les gènes, seraient composées de mots comprenant trois lettres choisies dans un alphabet chimique de quatre lettres (les bases).

D'autres molécules, tout aussi indispensables à la vie, sont également susceptibles d'être affectées par les rayonnements : ce sont les molécules d'eau. Solvant de toutes les molécules de la cellule, l'eau occupe une place particulière puisqu'elle représente près de 80% du poids du corps humain. Les rayonnements ionisants sont ainsi capables d'agir sur l'ADN de façon directe, par ionisation des atomes de cette molécule, et d'induire des modifications locales de la double hélice. Les mêmes dégâts peuvent être causés de façon indirecte, par ionisation d'une molécule d'eau. La décomposition de l'eau par les rayonnements ionisants génère en effet des espèces chimiques qui sont instables car elles possèdent un électron non apparié (radicaux libres). Ce sont des puissants réactifs qui, s'ils sont créés au voisinage de l'ADN, vont l'oxyder.

L'action des rayonnements non ionisants (les radiations ultraviolettes, visibles, infrarouges et les ondes radioélectriques ou hertziennes) conduit également à la formation d'espèces chimiques actives intervenant en outre dans le vieillissement cellulaire.

Aussi, que les rayonnements soient ionisants ou non, qu'ils agissent directement ou indirectement sur l'ADN, il en résultera des modifications du même type. Ces lésions, que ce soient des dégradations ou des disparitions de bases, des cassures de l'un ou des deux brins de la chaîne d'ADN ou encore des pontages entre cette molécule et certaines protéines, perturberont la conservation du patrimoine génétique.

Tous ces phénomènes moléculaires interviennent sur une durée très brève, entre un millionième et un millième de seconde au total. Pour les étudier sur un plan pratique, au-delà du concept global de dose absorbée, qui quantifie l'énergie déposée, la technique de la microdosimétrie permet d'étudier la géométrie microscopique du dépôt d'énergie. Cette approche facilite l'évaluation des dégâts infligés à l'ADN et

contribue, en complément des recherches sur les mécanismes fondamentaux, à mieux expliquer l'action des rayonnements sur la matière biologique.

Bibliographie

- [1] Tubiana M., Dutreix J., Dutreix A., and Jockey P., *Bases physiques de la radiothérapie et de la radiobiologie* (1963), Paris : Masson et Cie.
- [2] Kraft G., and Langbein K., *In 6th Workshop on heavy charged particles in biology and medicine*. GSI Report 97-09 (1998).
- [3] Champion C., *Structure des dépôts d'énergie des ions rapides dans l'eau : Application à l'étude par simulation Monte Carlo de l'inactivation cellulaire*, Thèse de 3^{ème} cycle (1999), Université Paris VII.
- [4] De Château-Thierry A., *Cours Interrégional de Radioprotection*, Saclay, CEA (1994).
- [5] Grémy F., and Perrin J., *Eléments de Biophysique*, Tomes I et II, Flammarion Médecine-Sciences (1997).
- [6] Warters R.L., Hofer K.G., Harris C.R., and Smith J.M., *Radionuclide toxicity in cultured mammalian cells: elucidation of the primary site of radiation damage*. Curr. Top. Radiat. Res. Quart., **12** (1977).
- [7] Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K., and Watson J.D., *La Cellule*. Flammarion Édition (1989), Paris : Médecine-Sciences.
- [8] Barendsen G.W., Walter H.M., Fowler J.F., and Bewley D.K., *Effects of different ionizing radiations on human cells in tissue culture*, Radiat. Res., **18**, (1963).
- [9] Sachs R.K., Chen A.M., and Brenner D.J., *Review: proximity effects in the production of chromosome aberrations by ionizing radiation*. Int. J. Radiat. Biol., **71** (1997).
- [10] Kraft G., *Radiobiology of very heavy ions: inactivation, induction of chromosome aberrations and strand breaks*, Nucl. Sci. Appl., **3** (1987).
- [11] Rydberg B., Löbrich M., and Cooper P.K., *Repair of clustered DNA damage caused by high LET radiation in human fibroblasts*, *In 6th Workshop on heavy charged particles in biology and medicine*. Physica Medica, 1998. XIV, Supplement 1.
- [12] Belli M., Ceras F., Cherubini R., Ianzini F., Moschini G., Sapora O., Simone G., Tabocchini M.A., and Tiveron P., *DNA double-strand breaks induced by low energy protons in V79 cells*. Int. J. Radiat. Biol., **65** (1994).
- [13] Folkard M., Prise K.M., Vojnovic B., Newman H.C., Roper M.J., and Michael B.D., *Inactivation of V79 cells by low-energy protons, deuterons and helium-3 ions*. Int. J. Radiat. Biol., **69** (1996).
- [14] Elkind M.M., *Repair processes in radiation biology*. *In Failla Memorial Lecture*, Radiat. Res., **100** (1984).
- [15] Zdzenicka M.Z., Wessel N.V., and Schaans G.P.V.D., *A fourth complementation group among ionization radiation-sensitive chinese hamster mutants defect in DNA double strand break repair*. Radiat. Res., **131** (1992).
- [16] Ward J.F., *Mechanisms of DNA repair and their potential modification for radiotherapy*. Int. J. of Rad. Onc., Biology and Physics, **12** (1986).

Les signaux du vivant et leur interprétation

Jean Louis COATRIEUX

Laboratoire Traitement du Signal et de l'Image

Inserm - Université de Rennes 1, Rennes

mél : jean-louis.coatrieux@univ-rennes1.fr

Les signaux du vivant sont sous-tendus par des mécanismes complexes, rarement réductibles à des sources élémentaires. Leur nature, les propriétés des tissus dans lesquels ces signaux se propagent, la localisation des capteurs et leur arrangement, leur caractère hétérogène ou pas vont déterminer l'information qu'il sera possible d'extraire sur la fonctionnalité d'une sous-structure, d'un organe ou d'un système à des fins diagnostiques. Dans ce contexte, les méthodes de traitement du signal vont permettre de détecter, segmenter, typer et classifier les événements et les signatures portées par ces observations, estimer les relations qu'elles entretiennent et, dans certaines situations, prédire, décider et suivre des processus pathologiques. Les technologies, dans ce même cadre, ne sont plus seulement une ressource mais un élément devant évoluer simultanément avec le traitement de l'information ou le faisant évoluer par leur dynamique propre (les microtechnologies en sont un bon exemple aujourd'hui).

Aperçu sur les signaux du vivant

Ces observations sont extrêmement diverses et nous n'en prendrons que quelques exemples. Leur génération peut être spontanée, volontaire, contrôlée ou non, ou évoquée, représentant dans ce dernier cas une réponse à un ou plusieurs stimuli. Leur nature principalement électrique a conduit, suivant l'organe considéré, à définir des techniques comme l'électromyographie (EMG) pour l'étude de la fonctionnalité des muscles ou des jonctions neuromusculaires. Les signaux que délivrent ces capteurs de surface (simplement posés sur le muscle observé) ou de profondeur (aiguilles disposant de deux capteurs ou plus à son extrémité) sont au premier abord parmi les plus simples à traiter. Il sont constitués de trains de potentiels d'unités motrices (PUM), potentiels présentant un caractère transitoire se répétant de manière quasi-régulière dans le temps lors d'une contraction musculaire soutenue, et se propageant le long des fibres musculaires [1]. Malgré cette situation privilégiée, certaines des questions posées de longue date restent toujours ouvertes. Plusieurs difficultés sont en effet présentes. Pour un train donné, les dates d'arrivée des PUM, leur forme et leur nombre ne sont pas connus. L'hypothèse qu'ils se répètent identiques à eux-mêmes n'est pas toujours vérifiée, en particulier en présence de pathologies neuromusculaires comme la myopathie où une désorganisation des déclenchements des potentiels élémentaires de fibres musculaires, constituant les PUM, peuvent présenter un caractère aléatoire. Dès que la force de contraction volontaire augmente, ces trains vont être multipliés en nombre et leur fréquence de répétition va augmenter : leur séparation sera rendue délicate du fait qu'ils

sont en général asynchrones, produisant, sur certains segments temporels, des mélanges de potentiels qu'il faudra décomposer afin d'extraire les fréquences de répétition. **Formes et fréquences** sont les deux informations essentielles à extraire. La première constatation tirée de cet exemple est donc que nous aurons à faire avec des **mélanges** de signaux. Ils pourront vérifier l'hypothèse de stationnarité lors d'une contraction maintenue constante ou statique, celle-ci n'étant plus valide lors d'une épreuve dynamique. La seconde correspond à la notion d'**apparence** : les signaux observés sont étroitement dépendants de la localisation du ou des capteurs relativement aux sources. De plus, lorsque des couches tissulaires vont s'interposer (électrodes de surface), leurs propriétés physiques (conductivité, anisotropie) auront une influence importante sur leur propagation et l'image résultante sur les capteurs. Cette question est centrale en Electroencéphalographie (EEG) par exemple alors que son effet est mineur en Magnétoencéphalographie (MEG). La multitude d'activités de populations neuronales, distribuées dans l'espace cérébral, va complexifier encore ces mélanges. Certes, l'utilisation de réseaux denses de capteurs, d'électrodes de profondeur (Stéréoencéphalographie ou SEEG) [2], permettra de mieux appréhender les processus dynamiques mis en jeu mais le caractère spontané de ces activités laisse peu de place à un véritable contrôle et nous éloigne donc de l'hypothèse de stationnarité. Par ailleurs, certaines observations se différencient par leurs échelles temporelles. Si pour les précédents, il est important d'analyser les phénomènes avec des résolutions de l'ordre de 0,1 ms, elles peuvent être très différentes pour d'autres comme l'hystérogaphie (EHG), c'est-à-dire l'observation des ondes de contraction lors d'une grossesse par capteurs de surface. Les signatures de contractions, où seules des composantes très lentes sont significatives [3], sont ici susceptibles de prédire un accouchement prématuré. Leur distribution très espacée à distance du terme introduit des difficultés d'investigation nouvelles. Il en est de même en épilepsie où les crises ont un caractère largement non prédictible.

Mais les signaux électriques sont loin d'être les seuls moyens d'observation à notre disposition. Beaucoup d'organes par exemple produisent des bruits comme les muscles ou le cœur, ces bruits pouvant être exploités à des fins diagnostiques. Il en est ainsi de l'acoustique cardiaque (le capteur étant un microphone ou un réseau de microphones) qui permet de détecter des anomalies de fermeture de valves, de contraction du myocarde, etc. [4]. Ces sons, à supports temporels brefs et dont l'interprétation physiologique des composantes fait encore l'objet de débats, sont malheureusement partiellement superposés temporellement. Leur séparation, leur caractérisation et leur compréhension, malgré les progrès réalisés récemment, restent donc du domaine de la recherche. Il s'agit là de techniques qui présentent l'avantage d'être non invasives, cette caractéristique étant amenée à jouer un rôle de plus en plus décisif à l'avenir. Il en est de même bien entendu pour l'activité électrique cardiaque (ECG) dont la banalisation en terme d'examen ne doit pas masquer les

problèmes difficiles encore à résoudre comme la détection de l'onde P correspondant à l'activité auriculaire. Les problèmes de dissociation et de disparition d'ondes, d'apparition de motifs arythmiques anormaux répartis sur différents cycles cardiaques restent des sujets de recherche à part entière en terme de traitement du signal lorsque des indices prédictifs d'anomalies cardiaques potentiellement graves sont recherchés [5]. Ce domaine est un très bon exemple de plus où une logique diagnostique est intrinsèquement liée au volet thérapeutique par le biais de prothèses cardiaques implantables, dont la commande doit être adaptée à l'information portée par l'observation : nous assistons à l'émergence du concept de prothèse intelligente et communicante où perception (capture de l'information), décision (ou raisonnement) et action (stimulation) sont intégrés.

Ces quelques exemples montrent que nos moyens de mesures sont extrêmement diversifiés et très souvent complémentaires. Leur caractère hétérogène (nous parlerons de multivariable) va déterminer l'information qu'il sera possible d'extraire sur la fonctionnalité d'un mécanisme particulier et, lorsqu'ils seront associés, permettre l'analyse globale d'une sous-structure, d'un organe ou d'un système.

Eléments de traitement du signal

Contrairement à ce qu'il peut laisser supposer au premier abord, le traitement du signal est loin d'être un domaine compact, unifié qui serait maîtrisé en totalité par quelques uns. Sa diversité oblige bien souvent à le segmenter en théories, en familles de pensées, en méthodes parfois presque étrangères les unes aux autres. Il est parcouru et nourri, en amont, de concepts provenant des mathématiques comme de la physique, en aval, de domaines applicatifs extrêmement variés (du radar aux télécommunications, des systèmes embarqués à la surveillance de turbines,...) et, à ce double titre, lui-même pluridisciplinaire [6]. Il n'est donc pas étonnant de trouver des mots clés aussi divers que restauration (le sens premier se retrouve identique en peinture), réduction de bruit (il suffit de se référer à la suppression du bruit de l'environnement en communication mains libres en voiture), détection (les potentiels d'unités motrices pour l'EMG) et estimation (leurs instants d'arrivée ou leurs formes). La localisation de sources est récemment devenue plus familière avec l'émergence des modèles de dipôles en EEG et MEG alors qu'elle est classique en traitement d'antennes appliqué aux sous-marins. Il en va de même pour le codage et la compression en communication numérique et pour la classification et la reconnaissance des formes dont l'intérêt est manifeste en diagnostic et en suivi thérapeutique. Bien entendu la physique du domaine, les contraintes d'observation, l'objectif poursuivi, parmi d'autres facteurs, vont amener à adapter et spécifier ces méthodes générales.

La diversité qui vient d'être mentionnée ne doit pas masquer pour autant les constantes, les invariants ou les unifications possibles. Prenons comme exemple la figure 1 entrant dans le cadre général de la théorie de la décision, largement inspirée par le bon sens ou le sens commun. Elle

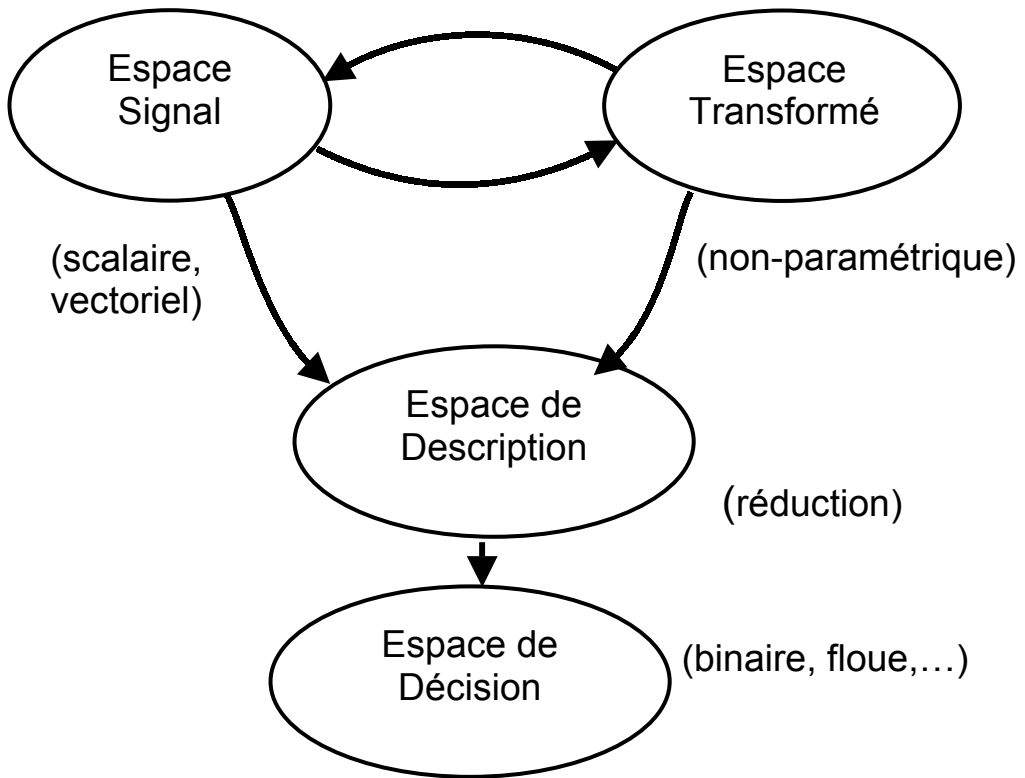


Figure 1 : Perception-Décision dans le traitement de l'information. Ce schéma explicite les étapes intermédiaires éventuelles consistant en un changement d'espace de représentation (transformation orthogonale ou non, permettant dans le premier cas de reconstituer à l'identique les observations originales, et dans le second, de séparer l'information utile à la décision). Il correspond à une procédure classique de reconnaissance des formes.

identifie l'espace « signal », les observations, qui peuvent être de dimension 1 (cas « scalaire » ou monocapteur) ou N (cas « vectoriel » comme l'EEG standard). En vision par ordinateur ou en robotique, elle représenterait ce qu'il est convenu d'appeler la phase de perception. Les configurations rencontrées (par exemple, signaux indépendants, partiellement corrélés ou totalement redondants) vont donner naissance à une multitude de traitements distincts (respectivement, fusion de données exploitant la complémentarité des informations, cohérence linéaire ou non, recouvrement de défaillance de capteurs). L'espace « transformé » peut correspondre à la recherche d'une décomposition orthogonale des signaux, obtenue aussi bien par une analyse en composantes principales que par certaines familles d'ondelettes. L'espoir est ici de mieux séparer les composantes utiles des perturbations (le bruit, par exemple) ou de réduire

la dimension de l'espace de travail en conservant l'essentiel de l'information portée par les signaux. Ce changement d'espace de représentation doit respecter le principe simple que deux formes similaires (resp. différentes) resteront proches (resp. éloignées). Dans certains cas cette transformation est réversible, ce qui permet de reconstruire exactement les données d'origine mais la plupart du temps une troncature est effectuée et une perte d'information s'ensuit, perte parfois volontairement recherchée comme en compression. L'espace de « description » réalise l'équivalent d'un codage des données directement de l'espace « signal » ou de l'espace « transformé ». Les descriptions par des paramètres temporels comme l'amplitude, la durée ou les passages par zéro ont été largement mis à profit pour la classification de signaux biomédicaux de nature transitoire ou impulsionnelle (pointes en EEG, potentiels d'action en EMG) mais aussi les coefficients de modèles paramétriques (autorégressifs ou AR, par exemple) et les puissances spectrales pour les signaux stationnaires (dont les propriétés au second ordre sont invariantes dans le temps). Cet espace de « description » est sensé préserver toute latitude en terme de décision ou de discrimination [7, 8] et les paramètres retenus peuvent eux-mêmes être soumis à une décomposition orthogonale si celle-ci n'a pas été opérée auparavant. L'espace de « décision » produit des réponses présent-absent (c'est le cas en détection d'événements mais aussi dans les arbres de décision diagnostique), d'appartenance à une classe particulière (méthodes de classification, etc. [8]) soit sous une forme catégorique ou binaire, soit en y attachant une probabilité ou un degré de certitude. Ce schéma a pour mérite de pouvoir être parcouru dans le cadre de tâches aussi distinctes que la segmentation de signaux, la reconnaissance des formes ou la compression de données (la Transformée en Cosinus Discret pour la vidéo en est un exemple simple). Leur mise en œuvre cependant n'est pas toujours triviale et amène des questions essentielles quant aux limites de ces méthodes. L'ensemble d'apprentissage est-il exhaustif ? Comment choisir une transformation ? Quelle garantie objective peut-on avoir du bon choix des descripteurs ? Quelles sont les conséquences d'une erreur de décision ? Des critères de qualité et de performances peuvent et doivent être définis mais ils ne permettent pas toujours d'y répondre de manière satisfaisante.

Malgré tout, il est clair que nous disposons de théories éprouvées et d'outils performants dès lors que les hypothèses de stationnarité sont valides (telles qu'elles peuvent être produites lors d'une contraction musculaire volontaire à force constante en EMG). C'est cette restriction qui a motivé, pour partie tout au moins, les avancées récentes (il serait plus juste de dire que beaucoup ont des bases théoriques connues depuis longtemps mais dont l'écho est récent). Les signaux non-stationnaires (il conviendrait d'y ajouter les mélanges ainsi que les comportements non-linéaires) correspondent en effet à la majorité des situations réelles rencontrées et ceci bien au delà des signaux neurophysiologiques qui sont

toutefois très représentatifs de la complexité à laquelle faire face (avec de plus, l'absence de « vérité-terrain » qu'il faut comprendre comme l'impossibilité de maîtriser les entrées et d'observer toutes les sorties des systèmes mis en jeu mais aussi de connaître, par une voie distincte, les mécanismes concernés et leurs expressions). Or ces situations non-stationnaires sont porteuses d'information qu'il s'agisse d'événements brefs (qui possèdent une localité temporelle), de dérives (se traduisant par des changements progressifs) ou de ruptures (changements brutaux de comportements) [9]. Les transformées temps-échelle (connues sous le nom d'ondelettes) font partie de ces nouvelles approches. Elles partent de l'idée que l'évolution de certains signaux peut être décrite relativement à une échelle d'observation spécifique. *A contrario*, d'autres signaux n'ont pas d'échelle de temps caractéristique mais tout ou partie de leurs propriétés statistiques se reproduisent identiques à elles-mêmes à toute échelle d'observation : c'est là l'origine du concept de fractalité et de longue dépendance. Les méthodes temps-fréquence [10] reposent sur la prise en compte explicite d'une évolution du contenu fréquentiel des signaux et permettent l'accès à des grandeurs instantanées comme la fréquence par exemple. Les propriétés formelles de ces méthodes émergentes ont fait l'objet de nombreux travaux [11-15]. Elles ont aussi conduit à des développements multiples tant en termes de familles d'ondelettes, comme les paquets d'ondelettes, de noyaux temps-fréquence minimisant les termes d'interférence et offrant une meilleure résolution fréquentielle, que d'applications, de la détection à la compression pour les premières, ou d'une adaptation au contenu du signal pour les secondes. Comme toutes les nouveautés, leur exploitation intensive, parfois dans des objectifs discutables et sur des observations ne se prêtant pas aux hypothèses mentionnées plus haut, tend à brouiller la valeur ajoutée qu'elles peuvent apporter comparativement à des approches traditionnelles. Là encore, le choix des transformées, sur la base d'une analyse des avantages et des inconvénients intrinsèques qui les caractérisent, reste délicat car la potentialité de biais dans les lectures auxquelles elles conduisent est réelle. Ces remarques amènent à s'interroger sur la pertinence d'une recherche d'universalité (ou de généricité) des méthodes à notre disposition quand les contenus des signaux présentent une très grande variabilité. Connaître leurs principes, comprendre les hypothèses sous-jacentes, croiser leurs résultats et leurs performances dans des configurations parfaitement contrôlées, toutes choses qui peuvent être appréhendées sans aucun développement mathématique, est indispensable.

Modèles pour le vivant

Une algorithmie, aussi novatrice et séduisante soit-elle, ne peut *de facto* apporter de réponses pertinentes qu'à des questions physiologiques elles aussi pertinentes. Cette tautologie n'est là que pour souligner la nécessité d'équilibrer (il ne s'agit pas de les remplacer) des vues purement

externes par des approches fondées sur une connaissance approfondie des mécanismes ou des processus observés, autrement dit la physiopathologie (ce qui dans d'autres domaines signifie la physique des milieux). Ainsi une méthode de traitement du signal ne se justifiera pas par une mise à l'épreuve rapide sur des données pré-établies, pas plus qu'une hypothèse physiologique ou clinique originale mais mal posée ne donnera lieu à des développements inconsidérés, qu'ils soient d'ordre méthodologique ou technologique. L'inversion de cette tendance et de cette pratique repose sur un postulat fort, la capacité de poser les bonnes questions et de les traduire en termes d'expérimentation, de logique conceptuelle et d'articulation des méthodes les mieux à même d'apporter une solution, quitte à remonter vers l'amont en questionnant les théories actuelles. Cet exercice est loin d'être évident et suppose, d'une part, la maîtrise conjointe des quatre composantes représentées figure 2, d'autre part, la volonté de déborder son propre champ de compétence et, pour le moins, de se familiariser avec les autres.

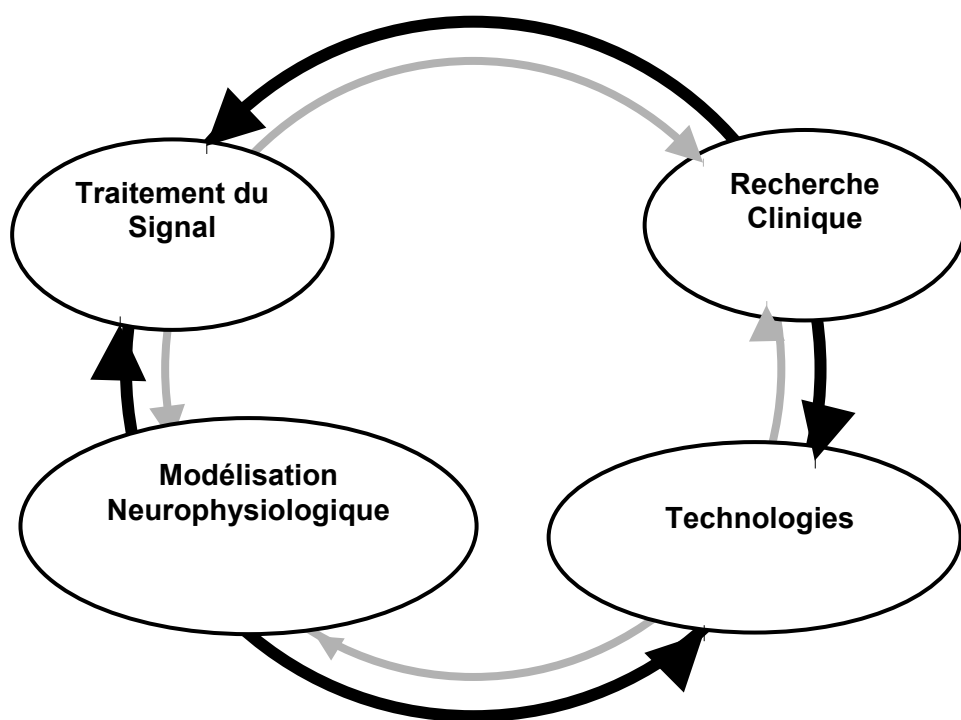


Figure 2 : Les quatre pôles intervenant dans le processus de construction des concepts, des hypothèses de travail, des expérimentations et des méthodes d'interprétation, dont les influences sont réciproques (les relations croisées n'étant pas représentées pour simplifier).

La modélisation mathématique devient alors une composante naturelle de cette démarche. Elle a des vocations multiples allant de la compréhension de processus et de systèmes complexes associant

plusieurs échelles de description (d'où la notion de « physiologie intégrative ») à la simulation réaliste, de l'optimisation des conditions d'observation (ce qui peut se traduire comme des acquisitions guidées par le modèle) à l'identification des modèles (dont la localisation de sources, évoquée auparavant, n'est qu'un sous-ensemble). Les technologies ne sont plus seulement, dans un tel schéma, une ressource mais un élément devant évoluer simultanément avec la recherche ou les faisant évoluer par leur dynamique propre (les microtechnologies en sont un bon exemple dès aujourd'hui).

La formulation et la formalisation de ces modèles dépendent bien entendu de nombreux critères : les objectifs poursuivis, les connaissances disponibles, le niveau de description, le cadre théorique dans lequel les exprimer, la validation expérimentale qui peut leur être attachée en sont quelques uns.

Le premier exemple, que le lecteur intéressé pourra trouver dans [16], concerne un modèle macroscopique cardiaque. Il a pour objectif de générer un catalogue d'arythmies (il s'agit donc du problème direct) en s'appuyant sur une description simplifiée du cœur tant sur le plan anatomique (nombre limité de compartiments représentant les oreillettes, les ventricules, la jonction auriculoventriculaire et le tissu nodal) qu'au niveau fonctionnel (période réfractaire relative, période réfractaire absolue, etc. chaque cellule étant représentée par des automates cellulaires). Mais il a aussi pour ambition de reconnaître, à partir d'observations ECG standard préalablement traitées (détection et étiquetage des ondes), le type d'arythmie présent par minimisation de l'erreur entre observations et modèle, ce dernier étant rendu évolutif par algorithme génétique.

Il est clair que nous disposons pour le cœur d'un ensemble de connaissances élémentaires suffisantes pour, à un niveau approprié, définir des approximations acceptables. Le fait aussi de se placer à un niveau de spécification proche de la clinique (génération du diagramme de Lewis par exemple) a orienté fortement le choix de ce modèle. Les modèles de populations neuronales couplées ne disposent pas de telles connaissances et leur prétention est moindre. Il s'agit de traduire, en prenant pour exemple le modèle proposé dans [17], quelques uns des mécanismes connus (en particulier les boucles d'excitation et d'inhibition) au moyen d'équations différentielles ordinaires afin de savoir si certaines des signatures observables en épilepsie par SEEG peuvent être reproduites par modèle. Au delà de ces patterns, la capacité de produire des transitions ou ruptures de comportements, à partir de certaines variables et d'intervalles de valeurs physiologiquement bien fondés, que ce soit des événements paroxystiques en périodes interictales (c'est-à-dire entre les crises) ou des débuts et fins de crises, est aussi significative pour apprécier la pertinence d'un tel modèle. Seule une comparaison visuelle avec les données réelles est actuellement possible car la réplification précise est hors de portée. Il est

cependant envisageable d'étudier la similarité de ces séquences de signatures simulées avec les signatures réelles en leur appliquant des transformations de type temps-fréquence : la mise en correspondance n'est plus alors réalisée dans l'espace signal mais dans l'espace transformé et peut s'appuyer sur des méthodes structurelles par exemple [15].

Conclusion

Cet article a eu pour objectif d'identifier quelques unes des facettes génériques des signaux biomédicaux de leur capture, leur analyse à leur compréhension. Il a tenté de montrer que de nombreux problèmes restent ouverts et que des solutions ne pourront leur être apportées qu'en tirant le meilleur bénéfice de l'algorithmie traitement du signal, des connaissances physiopathologiques à notre disposition. Formuler une question pertinente n'est pas trivial, saisir dans la littérature les découvertes qui permettent de faire progresser les modèles, en faire une théorie mathématiquement consistante où l'heuristique de l'expérimentation peut s'immerger et enfin apporter des solutions diagnostiques et thérapeutiques innovantes, en sont les éléments clés.

Remerciements

L'auteur tient à remercier tous les chercheurs du Laboratoire Traitement du Signal et de l'Image (LTSI-INSERM) ayant contribué à cette réflexion d'ensemble. Il tient à remercier les organisateurs de l'école e2phy 2002 pour leur invitation et exprime l'espoir de voir leurs étudiants s'intéresser à la physique du vivant.

Bibliographie

- [1] Coatrieux J.L., On line electromyographic signal processing system, IEEE Trans. Biomed. Eng, 31(2), 1984, pp. 199-207.
- [2] Bancaud J., Talairach J., Bonis A., Schaub C., Szikla G., Morel P., Bordas-Ferrer M., La stéréoelectroencéphalographie dans l'épilepsie: informations neurophysio-pathologiques apportées par l'investigation fonctionnelle stéréotaxique, Masson, 1965.
- [3] Leman H., Marque C., Gondry J., Use of the electrohysteroqram signal for characterization of contractions during pregnancy , IEEE Trans. Biomed. Eng, 46(10), 1999 , pp. 1222 –1229.
- [4] Durand L.G., Pibarot P., Digital signal processing of the Phonocardiogram : review of the most recent advancements, Critical Reviews in Biomedical Engineering, 23(3-4), 1995, pp. 163-219.
- [5] Hernandez A.I., Carrault G., Mora F., Thoraval L., Passariello G., Schleich J.M, Multisensor fusion for atrial and ventricular activity detection in coronary care monitoring, IEEE Trans. Biomed. ng, 46(10), 1999, pp. 1186-1190.
- [6] Traité "Information, Commande et Communication" (IC2), Editions Hermès (il s'agit d'une collection d'ouvrages couvrant le traitement du signal, l'automatique, etc. dont plusieurs volumes sont déjà parus).

- [7] Escoffier B., Analyses factorielles simples et multiples: objectifs, méthodes et interprétations, Dunod.
- [8] Celeux G., Diday E., Govaert G., Lechevallier Y., Ralambondrainy H., Classification automatique des données, Dunod, 1989.
- [9] Basseville M., Nikiforov I., Detection of abrupt changes: theory and application, Prentice Hall, 1993.
- [10] Flandrin P., Temps-Fréquence, Hermès, Paris, 1993
- [11] Senhadji L., Duchêne J., (Eds), Contribution des approches Temps-Fréquence à l'analyse des signaux et des images en génie biomédical, Innov. Technol. Biol. Med, 19(3), 1998.
- [12] Zhang X., Durand L.G., Senhadji L., Lee H.C., Coatrieux J.L., Analysis-synthesis of the phonocardiogram based on the matching pursuit, IEEE Trans. Biomed. Eng., 45(8), 1998, pp. 962-971.
- [13] Zhang X., Durand L.G., Senhadji L., Lee C., Coatrieux J.L., Time frequency scaling transformation of the phonocardiogram based on the matching pursuit, IEEE Trans. Biomed. Eng., 45(8), 1998, pp. 972-979.
- [14] Senhadji L., Bellanger J.J., Carrault G., EEG spike detectors based on different decompositions: A comparative study, In "Time Frequency and Wavelets in Biomedical Engineering", M. Akay Ed., IEEE Press, 1998, pp. 407-421.
- [15] Wendling F., Shamsollahi M.B., Badier J.M., Bellanger J.J., Time-frequency matching of warped depth-EEG seizure observations, IEEE Trans. Biomed. Eng., 46(5), 1999, pp. 601-605.
- [16] Hernandez A., Carrault G., Mora F., Bardou A., Overview of Carmen: a new dynamic quantitative cardiac model for ECG monitoring and its adaptation to observed signals, Acta Biotheoretica, 48, 2000, pp. 303-322.
- [17] Wendling F., Bellanger J.J., Bartholomei F., Chauvel P., Relevance of nonlinear lumped-parameter model in the analysis of depth-EEG epileptic signals, Biol. Cybernetics, 83, 2000, pp. 367-378.

Le scanner : Principe - Technologie - Applications

Albert LISBONA

Service de Physique Médicale

CRLCC René Gauducheau, Saint-Herblain

mél : a-lisbona@nantes.fnclcc.fr

Bernard AUBERT

Service de Physique, Institut Gustave-Roussy, Villejuif

mél : aubert@igr.fr

Les principes mathématiques de la théorie de reconstruction d'un objet à partir de la connaissance de ses projections ont été énoncés en 1917 par J. Radon. Les applications pratiques sont plus récentes puisqu'elles furent développées par R.N. Bracewell en 1956 dans le domaine de la radio-astronomie afin d'identifier des régions solaires émettant des radiations micro-ondes. Les premières applications médicales furent réalisées en 1960 par W.H. Oldendorf en utilisant une source de rayonnements émettant des rayons gamma et en 1963 par D.E. Kuhl et R.Q. Edwards ainsi que par A.M. Cormak.

La tomographie par rayons X assistée par ordinateur (encore appelé tomodensitométrie ou scanographie) fut développée par G.M. Hounsfield et la première machine (scanner) utilisable sur site clinique fut installée en 1971 à Londres. Elle ne permettait d'examiner que la tête, et l'exploration du "corps entier" fut possible à partir de 1974. La mise au point de la scanographie a été saluée comme la découverte la plus importante en radiologie depuis celle des rayons X par W.C. Roentgen en 1895. Elle a valu à A.M. Cormak et G.M. Hounsfield le prix Nobel de Médecine en 1979 [1].

La tomographie axiale assistée par ordinateur (C.T.), ou scanographie, est basée sur la détection d'un faisceau de rayons X tournant autour du patient (figures 1 et 2). Cependant, à l'opposé de la radiologie classique où le faisceau transmis est détecté et visualisé à l'aide d'un film ou d'un amplificateur de luminance, il est détecté électroniquement puis numérisé. L'image est ensuite reconstruite à l'aide d'un ordinateur et visualisée. L'acquisition de plusieurs coupes adjacentes conduit à l'information tridimensionnelle.

Depuis son apparition il y a maintenant plus de trente ans, la scanographie a connu un succès croissant, le nombre de scanners ayant par exemple plus que doublé entre 1988 (229 machines) et 1997 (563 machines) [2]. Aussi, compte tenu des niveaux de doses relativement élevés délivrés par ces examens, cette technique d'imagerie représente à ce jour la principale source d'exposition de la population dans le domaine du radiodiagnostic. Des études britanniques [3] menées par le NRPB¹ ont montré que, sur la base de 20 h.Sv par an et par machine, la dose efficace collective due à la scanographie pouvait être estimée en 1993 à 7000 h.Sv, contribuant ainsi à plus du tiers de la dose totale due à l'ensemble des examens par rayons X.

¹ National Radiological Protection Board

I - Rappels sur le principe

1. Acquisition des données

L'acquisition d'un grand nombre de projections (monodimensionnelles) d'une coupe axiale transverse (bidimensionnelle) permet la reconstruction mathématique de l'objet examiné. L'acquisition de ces projections s'effectue en déplaçant, par rotation, un tube à rayons X associé à un ensemble de détection, le patient étant placé entre le tube et les détecteurs (figures 1 et 2).

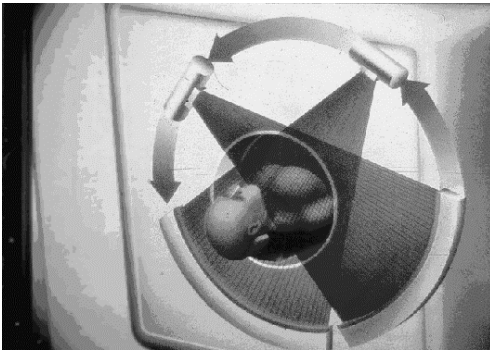


Figure 1 : Principe d'acquisition des données sur un scanner.

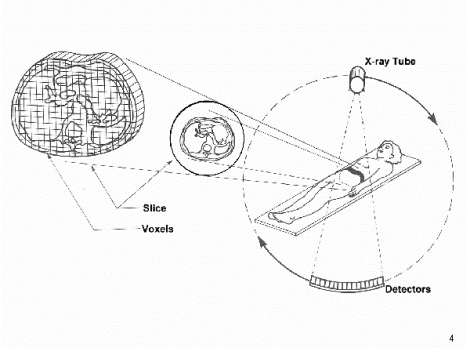


Figure 2 : Schéma de la coupe reconstruite

Un faisceau de rayons X, lors de la traversée de l'organisme, est atténué par absorption et par diffusion (effets photo-électrique et Compton). Cette atténuation dépend de la densité du milieu, de sa composition atomique et de l'énergie du faisceau de rayons X. L'atténuation d'un faisceau monochromatique par un objet de densité uniforme répond à la loi bien connue :

$$I = I_0 \exp (-\mu L)$$

avec

I_0	:	flux de rayons X à l'entrée
I	:	flux de rayons X à la sortie
μ	:	coefficient d'atténuation linéique du milieu
L	:	épaisseur du milieu traversé.

Pour un objet plus complexe composé de petits éléments de volume identiques mais de densités différentes on peut écrire :

$$\Sigma \mu_i = (1/L) \cdot \ln (I_0/I)$$

avec

μ_i : coefficient d'atténuation linéique de l'élément i
 L : largeur de chaque élément volumique.

Ainsi la somme des coefficients d'atténuation linéique le long de cet objet peut-être calculée. Ce processus constitue la mesure élémentaire en scanographie. Il nécessite un ensemble composé d'un tube à rayons X, d'un détecteur de référence pour la mesure de I_0 et d'un détecteur de mesure pour I .

Le déplacement linéaire de cet ensemble de mesure de part et d'autre de l'objet examiné permet d'obtenir une série de mesures élémentaires. L'ensemble de ces mesures pour une direction donnée (q), constitue une projection $p(r, q)$. Ce processus est répété plusieurs fois tout autour de l'objet (sur 180° ou 360°) de façon à disposer des projections nécessaires à la détermination du coefficient d'atténuation linéique de chaque élément volumique de l'objet.

a) Processus de reconstruction

Le processus de reconstruction basé sur des mesures échantillonnées (m mesures élémentaires par projection et p projections par acquisition soit $m \times p$ mesures par acquisition) va conduire à une matrice image dont le contenu de chaque pixel (contraction de *picture element*) représente le coefficient d'atténuation d'un volume élémentaire (voxel) dont la section est égale au pixel (0,5 à 2 mm de côté) et la profondeur est égale à la largeur du faisceau de rayons X traversant le patient (épaisseur de coupe de 1 à 10 mm).

La méthode de reconstruction utilisée est celle de la rétroprojection filtrée. L'utilisation d'une simple rétroprojection conduisant à une image floue, il est nécessaire de filtrer les projections avant de les rétroprojeter (figure 3).

Cette filtration est obtenue par convolution de chaque projection mesurée avec un filtre rampe (s). La phase de mesure nous donne les projections $p(r, q)$.

La rétroprojection simple conduit à une fonction approchée $f'(x, y)$ telle que :

$$f'(x, y) = \frac{1}{\pi} \int_0^\pi d(r, \theta) d\theta$$

La rétroprojection filtrée conduit à une fonction exacte $f(x,y)$ telle que :

$$f(x,y) = \frac{1}{\pi} \int_0^{\pi} p'(r,\theta) d\theta$$

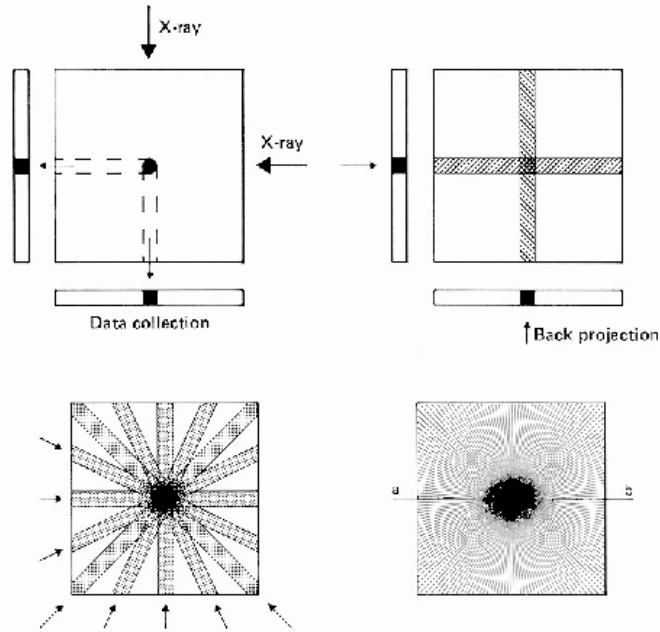


Figure 3 : Principe de la méthode de reconstruction par rétroprojection filtrée.

où $p'(r,q)$ est obtenu par convolution de $p(r,q)$ avec la fonction filtre s

$$p'(r,q) = p(r,q) \times s$$

En pratique, une convolution dans le domaine réel est équivalente à une multiplication dans le domaine fréquentiel. Ce processus conduit en fait à une procédure de reconstruction plus rapide. Ce passage est obtenu par utilisation de la transformée de Fourier. Le retour au domaine réel s'effectue par transformée de Fourier inverse.

Le filtre rampe s a une fonction de reconstruction et de suppression de flou dans l'image. Cependant on profite de cette phase pour modifier le contenu de l'image en fonction de l'application recherchée : renforcement des contours, diminution du bruit, ... figure 4). Cette modification est obtenue en multipliant le filtre rampe par un des filtres privilégiant par exemple les hautes fréquences spatiales ou les basses fréquences spatiales (en fonction de l'exploration clinique). Notons qu'en dehors du

filtre d'autres paramètres dépendant de l'opérateur influencent l'information contenue dans l'image : ce sont soit des paramètres d'acquisition (haute tension, dimensions du champ exploré, ...) soit des paramètres de reconstruction (taille de la matrice image, zoom, ...).

Ainsi le processus de reconstruction est constitué des 4 étapes suivantes : mesure, prétraitement (conversion logarithmique $\ln(I_0/I)$), filtrage et rétroprojection. Une fois le processus de rétroprojection terminé, l'image est disponible en mémoire, prête à être visualisée avec un contenu des pixels normalisé selon une échelle de nombres standardisée.

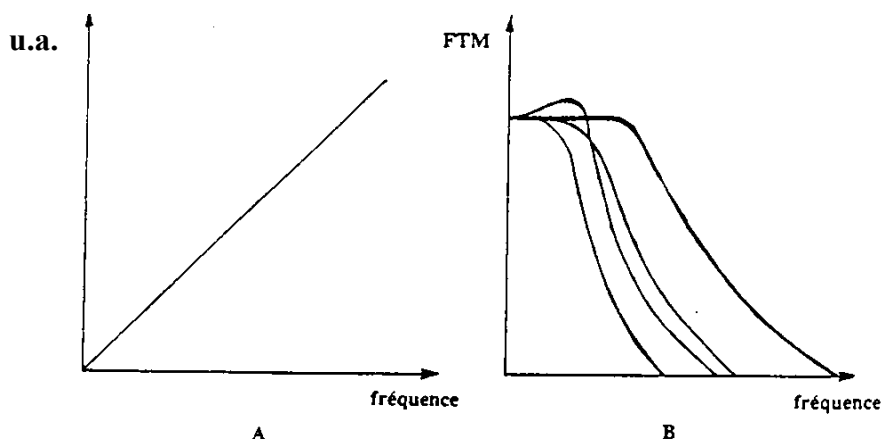


Figure 4 : A) Filtre rampe intervenant dans le processus de rétroprojection filtrée. B) Filtres complémentaires dépendant de l'exploration clinique. En pratique le filtre utilisé est le produit du filtre rampe avec un de ces filtres.

En scanographie le paramètre physique à la base du contraste dans l'image est le coefficient linéique d'atténuation μ . Le contenu N_s de chaque pixel de l'image est relié aux valeurs de μ par la relation :

$$N_s = \frac{\mu_{\text{tissu}} - \mu_{\text{eau}}}{\mu_{\text{eau}}} \times 1000$$

Cette relation conduit à une échelle standardisée (échelle d'HOUNSFIELD) utilisée sur tous les scanners. Elle repose sur deux valeurs particulières : -1000 pour l'air et 0 pour l'eau. En pratique elle s'étend au delà de +1000 pour l'os dense. En fait, une dynamique de 12 bits (4096 niveaux), décalée de 1024 vers le bas, est disponible. Cette échelle aussi étendue est nécessaire car les scanners actuels permettent de séparer des tissus dont les μ diffèrent de 0,3 %.

Pour observer en détail une image sur l'écran vidéo on ne peut pas visualiser toute la dynamique (4096 niveaux) contenue dans l'image à l'aide de l'échelle de gris généralement disponible (16 niveaux). On est donc conduit à sélectionner une largeur de fenêtre dans laquelle vont s'étaler les niveaux de gris et choisir un niveau moyen correspondant au milieu de la fenêtre. Ces paramètres sont respectivement adaptés au contraste recherché et aux tissus examinés.

II - Technologie du scanner

1. Aspects technologiques

Sur les appareils dits de 3^{ème} génération l'ensemble tube-détecteur est animé d'un mouvement de rotation avec un temps minimum d'acquisition de 1 seconde pour 360 degrés, autorisant les explorations du thorax et de l'abdomen.

Le faisceau est suffisamment ouvert, en forme d'éventail, pour englober entièrement l'objet dans un champ supérieur à 50 cm de diamètre environ. Le nombre de détecteurs varie de 250 à 1000 dans un angle de 45 à 50 degrés. Un certain nombre de détecteurs situés à la partie extrême de l'éventail, reçoivent le flux de rayons X non atténué. Ils donnent à chaque instant la mesure de l'intensité incidente (I_0) et permettent d'en tenir compte dans le calcul d'éventuelles dérives.

Le principe dit de 4^{ème} génération utilise des détecteurs fixes disposés en couronne sur 360 degrés. Le tube décrit un mouvement circulaire soit à l'intérieur soit à l'extérieur de cette couronne. Dans ce dernier cas, la couronne est animée d'un mouvement de nutation synchronisé avec celui du tube. Le nombre de détecteurs est relativement grand (de 600 à 1000). Les temps d'acquisition sont dans ce principe de l'ordre de 1 seconde.

Un système (IMATRON), sans mouvements mécaniques, permet d'obtenir 2 coupes en un temps d'acquisition de 50 ms particulièrement adapté aux études cardiaques.

Son originalité réside dans le mode de balayage du faisceau de rayons X. Celui-ci est réalisé grâce à la déflexion d'un faisceau d'électrons frappant une anode en arc de cercle de rayon 1 mètre sur 180 degrés. La disposition en parallèle de 4 anodes et d'un système de collimation sur les détecteurs permet d'enregistrer simultanément les informations relatives à la reconstruction de 8 coupes parallèles.

a) Production des rayons X

- Générateur

Les générateurs fournissent, en particulier, la tension (de l'ordre de 130 kV) et le courant nécessaires à l'accélération des électrons dans le tube à rayons X. Ces électrons interagissent, ensuite, avec la cible (anode en tungstène) par rayonnement de freinage (Bremsstrahlung) pour produire le spectre continu de rayons X utiles pour la réalisation de l'examen. Les générateurs sont du type tension constante, régulée à quelques dix millièmes près (soit quelques dizaines de volts) pour assurer un flux énergétique quasi constant. L'invariabilité est essentielle puisqu'elle conditionne la valeur μ du coefficient d'atténuation mesuré. Une stabilité meilleure que 1/1000 permet d'apprécier une différence en atténuation de l'ordre de 0,3 %.

Pour obtenir une énergie effective supérieure à 60 keV, les générateurs doivent fournir des tensions comprises entre 90 kV et 140 kV sous un courant de 50 à 300 mA en mode continu ou de 100 à 700 mA en mode pulsé. Pour les régimes de fonctionnement en mode pulsé, la durée d'impulsion réglable peut varier de 1 à 7 ms avec une fréquence de 100 à 200 impulsions par seconde conditionnant l'acquisition des projections. Dans le cas d'un fonctionnement en mode continu la mesure est échantillonnée au niveau des détecteurs pendant une durée variant de 1 à 7 ms par projection. Avec ce mode de fonctionnement on peut réaliser jusqu'à 1000 projections par seconde.

- Tubes à rayons X

Pour les appareils actuels, les puissances élevées nécessaires exigent l'utilisation de tubes à anode tournante. La double exigence de l'ouverture importante du faisceau de rayons X (50 degrés) et de la limitation des effets gyroscopiques nécessitent une orientation de l'axe longitudinal du tube (ou de l'anode tournante) perpendiculaire au plan du mouvement de rotation.

Une technique plus récente génère deux positions différentes du foyer à partir du même filament pour améliorer la résolution spatiale. Les émissions de rayons X issues des deux foyers sont contrôlées par ordinateur. La chaîne de détecteurs capte alternativement les informations provenant des deux faisceaux. Cette technique du double foyer est équivalente au doublement du nombre des détecteurs. On obtient ainsi des performances en haute résolution de l'ordre de 20 paires de lignes/cm (0,2 mm) pour des champs de reconstruction de 240 mm.

Les tubes à rayons X sont soumis à des contraintes thermiques et mécaniques sévères, ils sont généralement garantis pour 35 000 coupes. Les filtrations inhérentes de 1 à 2,5 mm Al et les filtrations additionnelles de 0,5 à 1 mm de Cu ont pour but d'éliminer le plus possible les composantes

de basses énergies du rayonnement X afin de favoriser le phénomène de durcissement du faisceau et d'avoir une énergie effective supérieure à 60 keV, généralement autour de 70 keV.

- Collimateur primaire

Le collimateur primaire placé à la sortie du tube à rayons X a pour but de définir l'ouverture du faisceau de rayons X (*fan beam* : faisceau en éventail), qui peut varier de 40 à 50 degrés, la largeur du faisceau de rayons X, généralement de 1 à 10 mm, est obtenue par motorisation des deux « mâchoires » du collimateur.

b) Détecteurs

Les caractéristiques essentielles des détecteurs sont :

- l'efficacité de détection quantique qui représente le rapport entre le nombre de photons absorbés par le détecteur et le nombre de photons incidents. En pratique, le paramètre utile est l'efficacité globale de détection qui est le produit de l'efficacité quantique du détecteur et de l'efficacité géométrique. L'efficacité géométrique dépend de la dimension des cellules et du collimateur secondaire ; elle est fonction de dispositifs utilisés par certains constructeurs (lamelles masquant la moitié de chaque détecteur par exemple).

- la précision et la stabilité différentielle des cellules : l'efficacité quantique de détection de chaque cellule doit être constante en fonction de l'énergie et de la fluence énergétique.

- la dynamique des mesures : quel que soit le type de détecteur utilisé, la dynamique de mesure est de 1:106 (cela correspond à la différence d'atténuation qui existe entre le faisceau dans l'air et le faisceau atténué par 70 cm de tissu mou).

Par ailleurs, les détecteurs doivent présenter les caractéristiques géométriques suivantes :

- une largeur suffisante, supérieure ou égale à 20 mm afin de détecter le plus large faisceau de rayons X disponible,

- une épaisseur suffisamment petite (de l'ordre de 1 à 2 mm) qui conditionne la largeur du rayon de mesure et donc de la résolution spatiale,

- une profondeur (ou longueur) dans le sens de propagation du rayonnement suffisante pour absorber une forte proportion de rayonnement (de 2 à 50 mm, en fonction du type de détecteur).

Deux principes sont utilisés: l'effet radioluminescent dans les détecteurs solides et l'ionisation dans les détecteurs à gaz.

- Détecteurs solides

Les nouveaux types de détecteurs utilisant l'association cristal scintillateur – photodiode (par exemple, CdWO_4) – ces semi-conducteurs permettent, de par leur conception, de loger de nombreux détecteurs dans un espace réduit et de les remplacer individuellement en cas de défaillance. Ils ne présentent pas de phénomène de vieillissement aussi rapide que les détecteurs NaI , BiGeO et CaF_2 et leur dérive thermique bien que très faible nécessite cependant une recalibration fréquente. L'efficacité de détection quantique est pratiquement de 100 % (10 % pour les cristaux associés à un PM). Les dimensions d'un détecteur sont d'environ 2 mm d'épaisseur, 20 mm de largeur et 2 mm de profondeur. Ils sont espacés de 0,3 à 0,6 mm.

- Détecteurs à gaz

Il s'agit d'une chambre à ionisation contenant du xénon sous pression. Le xénon est un gaz lourd ($A = 131$, $Z = 54$), sa densité est 4,5 fois supérieure à celle de l'air dans les mêmes conditions de température et de pression. Pour augmenter son efficacité de détection on utilise le xénon sous pression de l'ordre de $2,5 \cdot 10^5$ Pa.

La chambre comporte des électrodes de champ et des électrodes de collection des ions. Chaque série d'électrodes forme une cellule et la chambre de détection peut comporter jusqu'à 1000 cellules élémentaires déployées sur un arc de cercle de 45 ou 50 degrés. Les dimensions de ces cellules sont de l'ordre de 1 mm en épaisseur, 30 mm en largeur et 50 mm en profondeur et les cellules sont espacées de 0,2 à 1,2 mm. L'efficacité de détection quantique de l'ordre de 50 à 60 % est fonction de la pression du gaz.

c) Collimateur secondaire

Le collimateur secondaire a pour but de minimiser la quantité de rayonnement diffusé responsable de la dégradation du contraste. Sur les appareils de 3^{ème} génération, le collimateur secondaire peut être constitué de lamelles de plomb focalisées sur le foyer du tube et placées sur la chaîne des détecteurs. La structure des électrodes des détecteurs à gaz, de par leur profondeur, favorise la collimation.

2. Évolutions du scanner

Le développement technologique des scanners s'est effectué autour de deux composantes principales :

- un dispositif d'émission et de détection des rayons X, capable de tourner autour du patient pour effectuer l'acquisition des données de base encore appelées projections et
- un ensemble pour la reconstruction des images de coupe axiale à partir des projections.

À ces deux ensembles il convient d'associer les fonctions de visualisation, de traitement, de transfert et d'archivage des images. Bien que complémentaires de la finalité première d'un scanner, ces fonctions ont connu ces dernières années un développement considérable, comme par exemple les reconstructions tridimensionnelles ou la représentation volumique des données anatomiques.

Si le principe de base est resté le même depuis 1971, de nombreux développements ont eu lieu sur les différents aspects techniques. Par la suite sont présentées les évolutions concernant la géométrie, le faisceau de rayons X et sa collimation, les détecteurs, et l'exploitation des données.

a) Géométrie des scanners

Dans les deux premières générations de scanners, le mouvement de l'ensemble tube-détecteur était du type translation-rotation [4]. Ce mouvement relativement compliqué, associant une translation puis une rotation de 1 à 10° (en fonction du nombre de détecteurs), se caractérisait par une mauvaise utilisation du faisceau de rayons X et des temps d'acquisition élevés. Le passage de un détecteur (1^{ère} génération) à plusieurs (≈ 30) détecteurs (2^{ème} génération) a permis de réduire les temps d'acquisition de quelques minutes à une dizaine de secondes et ainsi autorisé le passage à l'exploration du corps entier. Dans la troisième génération les scanners utilisent un faisceau de rayons X en éventail suffisamment large (ouverture d'au moins 40°) pour supprimer le mouvement de translation d'où l'appellation rotation-rotation. Le nombre de détecteurs (plusieurs centaines) permet d'obtenir simultanément l'ensemble des mesures relatives à une projection. Le temps d'acquisition se trouve ainsi ramené à quelques secondes pour une acquisition sur 360°. Dans la quatrième génération, un anneau de détecteurs entoure le patient, et seul le faisceau de rayons X est animé d'un mouvement de rotation. Ce type de géométrie a permis de supprimer le risque d'artefacts circulaires dans l'image parfois associé à des scanners de troisième génération. Un pas significatif a été franchi sur les temps d'acquisition en développant un scanner dit de cinquième génération, où les mouvements mécaniques ont été remplacés par le balayage d'une cible fixe de forme circulaire par un faisceau d'électrons (scanner Imatron). Ce principe a permis d'atteindre des temps d'acquisition de l'ordre de 0,01s et de réaliser des acquisitions cardiaques synchronisées. En fait les évolutions technologiques se sont surtout concentrées sur le type de géométrie dit de troisième génération,

autour duquel sont apparues les plus récents progrès technologiques tels que le mouvement hélicoïdal, les détecteurs à multi-barrettes, etc.

b) Faisceau de rayons X

Nous allons considérer les évolutions concernant trois éléments conditionnant le faisceau de rayons X, c'est à dire le tube, la filtration et la collimation.

- Tube à rayons X

Sur les appareils de première et deuxième génération, les tubes à rayons X étaient du type anode fixe et refroidissement par huile. À partir de la troisième génération des tubes à anode tournante et refroidissement par air ont été utilisés, le faisceau étant soit pulsé soit continu. Les tubes pour scanners sont spécialement conçus pour cette application, l'ensemble du processus de génération du faisceau devant offrir une stabilité meilleure que 99 %, aussi bien en quantité qu'en qualité. La haute tension se situe généralement entre 80 et 140 kV et les temps d'exposition peuvent atteindre, maintenant, quelques dizaines de secondes en acquisition hélicoïdale. Aussi les tubes pour scanners ont évolué vers des produits offrant une capacité calorifique de plus en plus grande (supérieure à 6 MUH - million d'unité chaleur) et des foyers mobiles pour doubler le nombre de projections. Les tubes les plus récents permettent de réaliser au moins 300 000 coupes et des acquisitions inférieures à la seconde.

- Filtration

Par rapport à la radiologie conventionnelle les faisceaux utilisés dans les scanners ont une filtration plus élevée afin de durcir le faisceau et le rendre aussi monochromatique que possible, d'où une couche de demi-atténuation supérieure à 7 mm d'aluminium. Sur le premier scanner la tête était placée dans une poche d'eau afin de limiter la dynamique de mesure (pas de mesures avec le faisceau dans l'air) et d'avoir une épaisseur de milieu traversé constante. Par la suite, afin de compenser les différences d'atténuation entre le centre et la périphérie de l'objet, les scanners ont été équipés, en plus du filtre plat destiné à "durcir" le faisceau, d'un filtre en forme de papillon (mince au centre et épais sur les bords) destiné à compenser pour les parcours plus courts des rayons X en périphérie du champ de vision. Sur certains appareils on dispose même de 2 filtres de compensation selon la taille du champ (diamètre du champ d'acquisition supérieur ou inférieur à 25 cm).

- Collimation

Le faisceau de rayons X est collimaté à la sortie du tube pour fixer la largeur de coupe souhaitée, c'est la collimation primaire et, parfois, à l'entrée de l'ensemble de détection, c'est la collimation secondaire. La collimation primaire est définie soit par des mâchoires qui se déplacent soit par des fentes fixes pré-formées dans du plomb. La qualité de cette collimation est essentielle pour que le profil de dose soit aussi proche que possible de celui de la coupe. La collimation secondaire a pour but d'éliminer le rayonnement diffusé parvenant au détecteur, responsable de la dégradation du contraste. Elle permet de séparer les éléments de détection selon la direction perpendiculaire au plan de coupe, et d'améliorer la définition de la largeur de coupe dans la direction parallèle au plan de coupe. Cette dernière collimation peut être absente sur certains scanners.

c) Ensemble de détection

Les conditions d'acquisition du faisceau de rayons X pour les scanners nécessitent, de la part des détecteurs, des caractéristiques spécifiques : efficacité de détection élevée, grande dynamique, faible bruit, peu de rémanence du signal, réponse linéaire et stable en température et dans le temps, et faible coût. Les premiers détecteurs (première et deuxième générations) étaient constitués d'un scintillateur couplé à un photomultiplicateur ; cependant leurs caractéristiques physiques et leur encombrement n'étaient pas idéales pour l'application. Par la suite sur les scanners à faisceau en éventail, 2 types de détecteurs ont été utilisés : le détecteur à gaz et celui à semi-conducteur.

Le détecteur à gaz est une chambre remplie d'un gaz sous pression (10 à 20 bar de xénon par exemple) dans laquelle des électrodes plates permettent de délimiter des cellules (≈ 700 à 1000) de mesure. Ces détecteurs se caractérisent par un faible espacement entre les cellules mais aussi par une efficacité de détection limitée ($\approx 70\%$).

Le détecteur à semi conducteur est composé d'un petit cristal scintillant (tungstate de cadmium par exemple) couplé à une photodiode. Ces détecteurs sont groupés de façon linéaire par plusieurs centaines. Ils se caractérisent par une efficacité de détection élevée (proche de 100 %) et équipent actuellement la majorité des appareils de haut de gamme. Ce type de détecteurs a permis le passage à des dispositifs de détection multi-barrettes.

d) Mode hélicoïdal

Les débuts du mode hélicoïdal [5] datent de 1989, cette technique ayant été développée à l'origine pour les études de régions soumises aux mouvements respiratoires ou cardiaques. Depuis cette date, ce mode a été étendu pratiquement à toutes les régions anatomiques compte tenu de la

vitesse d'acquisition qu'il procure. Il permet l'acquisition d'un grand volume anatomique (50 à 60 cm de longueur) en moins d'une minute. Il faut être conscient de toutes les évolutions technologiques qui ont permis le développement de ce mode : rotation continue du tube à rayons X et des détecteurs, alimentation du tube à rayons X par contacts glissants, tube à anode tournante ayant une capacité calorifique élevée, transmission sans fil du signal, flux de données élevé, capacité de stockage des informations importante et temps de reconstruction des images très court.

e) Exploitation des données

Parallèlement aux évolutions technologiques qui ont directement concerné les composants de base du scanner, on a assisté également à des développements au niveau de l'utilisation des données pour permettre de nouvelles applications. En effet, la scanographie fut la première technique d'imagerie totalement numérique en radiologie. Cette caractéristique a rapidement conduit certains utilisateurs à essayer d'exploiter les données d'un point de vue quantitatif à des fins, par exemple, de caractérisation tissulaire [6, 7]. Ces travaux n'ont pas eu les résultats espérés. Il faut citer néanmoins le développement de l'acquisition en double énergie pour extraire la carte des distributions en densité électronique et en numéro atomique, et surtout les études du contenu minéral osseux (ostéodensitométrie).

Depuis le début des années 90 il est possible d'utiliser l'ensemble des données d'un volume pour procéder à des reconstructions tridimensionnelles afin de visualiser le volume sous n'importe quel angle ou l'image d'une coupe dans n'importe quelle incidence. Cette fonction, associée à un outil de segmentation plus ou moins automatique, est utile pour l'enseignement, l'aide à la chirurgie dans le cas d'interventions stéréotaxiques, de mise en place de prothèses, de reconstruction plastique, etc. Parmi les évolutions les plus récentes, principalement dues au développement de l'acquisition hélicoïdale, citons l'angiographie synchronisée sur l'injection de produit de contraste [8], la mesure de densité pulmonaire sous contrôle spirométrique [9] et l'endoscopie virtuelle [10]. On terminera ce panorama des évolutions associées aux progrès du traitement des données par le scanner interventionnel [11]. Cette technique, qui nécessite de disposer d'une reconstruction en temps réel, d'un écran dans la salle d'examen, et de la possibilité de contrôler la position de la table, permet de guider en temps réel les gestes d'une procédure interventionnelle.

3. Perspectives

Si le principe de base du scanner n'a pas changé depuis son apparition en 1971, on doit noter que les évolutions technologiques ont été constantes et particulièrement importantes ces dix dernières années autour de la géométrie dite de troisième génération et du mode hélicoïdal. Ces progrès ont conduit à une amélioration des performances comme le montre le tableau I.

Année	1972	1980	1990	2000
temps d'acquisition (s)	300	2,5	1	0,5
taille de la matrice (pixel)	80 x 80	256 x 256	512 x 512	1024 x 1024
puissance (kW)	2	6	40	60
résolution spatiale (pl/cm)	3	15	15	15
résolution en contraste	5mm/5UH/ 50mGy	3mm/3UH/ 30mGy	3mm/3UH/ 30mGy	3mm/3UH/ 30mGy

Tableau I : Évolution des performances des scanners au cours du temps. Les valeurs indiquées correspondent à des conditions d'acquisition standard.

Cependant on peut voir que les caractéristiques de l'image (résolution spatiale et résolution en contraste) étaient déjà du niveau des performances actuelles en 1980, c'est-à-dire sur certains appareils de 2^{ième} génération et, bien sûr, ceux de 3^{ième} génération. Par contre le temps d'acquisition, la matrice de reconstruction, la puissance des générateurs et tous les logiciels d'analyse d'image ont été considérablement améliorés.

Tous ces progrès ont fait que la place de cette technique a été de plus en grande dans les explorations diagnostiques. Que peut-on attendre des prochaines évolutions [11, 12] ? Le prochain pas significatif attendu pour cette technologie est le passage à l'acquisition volumique. Ce progrès technologique aura un impact considérable sur les applications cliniques par l'accélération des temps d'acquisition et l'augmentation des volumes explorés. Pour cela il faut remplacer le système de détection à une (ou deux) barrette(s) par un détecteur plan, par exemple 16000 éléments de détection (16 rangées de 1000 détecteurs chacune). Il sera alors possible de couvrir tout un organe en une ou deux rotations.

Bibliographie

- [1] Friedland GW and Thurber BD. The birth of CT. *AJR* 1996 ; 167:1365-1370.
- [2] Annuaire de la Cancérologie/Radiothérapie et des Imageries Médicales en France (ACRIM), 17^{ème} édition, éditeur A. Laugier, Paris (1998).
- [3] Shrimpton PC, Wall BF. CT - an increasingly important slice of the medical exposure of patients (correspondence). *Br J Radiol*, 66:1067-1068 (1993).
- [4] Webb S. A review of physical aspects of X-ray transmission computed tomography. *IEEE Proceedings* 1987;134:126-135.
- [5] Zeman RK, Fox SH, Silverman PM, et al. Helical (spiral) CT of the abdomen. *AJR* 1993 ; 160:719-725.
- [6] Brooks RA. A quantitative theory of the Hounsfield unit and its application to dual energy scanning. *Journal of Computed Assisted Tomography* 1977 ; 1:487-493
- [7] Crawley EO. In vivo tissue characterization using quantitative computed tomography: a review. *Journal of Medical Engineering & Technology* 1990 ; 14:233-242.
- [8] Bautz W, Strotzer M, Lenz M, et al. Preoperative evaluation of the vessels of the upper abdomen with spiral CT: comparison with conventional CT and arterial DSA. *Radiology* 1991 ; 181:261.
- [9] Kalender WA, Rienmüller R, SeisslerW, et al. Spirometric gating for measuring pulmonary parenchymal density by quantitative computed tomography. *Radiology* 1990;175:265-268.
- [10] Rubin GD, Beaulieu CF, Argiro V, et al. Perspective volume rendering of CT and MR images: applications for endoscopic imaging. *Radiology* 1996 ; 199:321-330.
- [11] Fox SH, Tanenbaum LN, Ackelsberg S, et al. Future directions in CT technology. *Neuroimaging Clinics of North America* 1998 ; 8:497-513.
- [12] Kalender WA. Quo vadis CT? CT in the year 2000. *ELECTROMEDICA* 1993 ; 61:30-39.

Références additionnelles

- Kalender, W.A., *Computed Tomography: Fundamentals, System Technology, Image Quality, Applications*. Wiley & Sons: New York (2000)
- Seeram, E., *Computed Tomography : Physical Principles, Clinical Applications and Quality Control*, 2nd Edition. Pub. W.B. Saunders (2001).
- www.impactscan.org

Médecine nucléaire : gamma-caméra et caméra à positons

Jean Philippe VUILLEZ

Service biophysique et médecine nucléaire

Hôpital Michallon et LER Inserm 00-08, Grenoble

mél : JPVuillez@chu-grenoble.fr

La médecine nucléaire est une spécialité de la médecine qui se définit par l'utilisation de médicaments radioactifs, administrés à des patients à des fins diagnostiques ou thérapeutiques. Le devenir biologique de ces radiopharmaceutiques dans l'organisme, c'est-à-dire leur distribution dans les tissus et son évolution au cours du temps, procure des informations irremplaçables pour étudier in vivo des processus biochimiques et physiopathologiques de façon non invasive. L'analyse de la distribution tridimensionnelle de la molécule marquée, et de son évolution au cours du temps, apporte les renseignements recherchés.

Pour cela, il faut détecter les molécules radioactives et en préciser la répartition à l'intérieur de l'organisme. Les médecins disposent pour ce faire de caméras adaptées, permettant la détection de molécules à l'état de traces (ne perturbant donc pas les phénomènes explorés), mais repérables grâce au marquage radioactif. C'est le principe de l'imagerie scintigraphique. Il faut distinguer les gamma-caméras, utilisées pour détecter les radionucléides émetteurs de simples photons (photons gamma, émis au niveau du noyau par désexcitation de celui-ci après une transformation radioactive) comme le technétium 99m, l'iode 123, l'indium 111, et les caméras à positons, utilisées pour détecter les photons d'annihilation des émetteurs de positons, comme le fluor 18.

I - Les radiopharmaceutiques, médicaments radioactifs

Un radiopharmaceutique est un médicament qui lorsqu'il est prêt à l'emploi contient un ou plusieurs radionucléides (isotopes radioactifs) incorporés à des fins médicales (loi n° 92-1279 du 8 décembre 1992 modifiant le livre V du code de la Santé Publique et relative à la pharmacie et au médicament). Les radiopharmaceutiques sont prescrits, dans le cadre de leur AMM, obligatoirement par un médecin titulaire du DES de Médecine Nucléaire, sous forme d'une ordonnance nominative pour chaque patient, précisant le nom du radiopharmaceutique, la quantité ainsi que l'activité injectées, et les conditions d'administration.

Le radiopharmaceutique étant un médicament, sa préparation doit être faite par ou sous la responsabilité d'un pharmacien ; s'agissant de médicament radioactifs, celui-ci doit être de plus titulaire du DESC de radiopharmacie-radiobiologie. Il est également responsable du contrôle de qualité de la préparation (pureté radionucléidique, rendement de marquage, stérilité, apyrogénicité, etc.), indispensable avant l'administration au patient.

Le choix du radiopharmaceutique est fait en fonction du phénomène à étudier. Il dépend des propriétés biologiques de la molécule (biodistribution, métabolisme, dégradation et élimination, fixation préférentielle dans certains tissus, affinité particulière pour certaines cellules, etc.) : la connaissance de ces propriétés permet de relier les résultats scintigraphiques ou thérapeutiques observés à des processus biochimiques et physiopathologiques, ce qui est au départ de l'interprétation correcte des examens, ou de la prescription d'une dose thérapeutique.

Compte tenu des très faibles quantités de molécules injectées, les radiopharmaceutiques sont dépourvus d'effets secondaires. Le seul risque théoriquement encouru par le patient est lié à la radioactivité, puisque l'émission de rayonnements γ et de particules β dans les tissus est responsable d'un dépôt d'énergie. Celui-ci, par lésions de structures cellulaires, en particulier de l'ADN, peut en théorie entraîner l'apparition d'un cancer ou d'anomalies génétiques transmissibles. En fait ce risque est extrêmement réduit, et jusqu'à présent aucun effet de ce type n'a pu être imputé à la Médecine Nucléaire, ce qui ne dispense pas du respect des principes de justification et d'optimisation en matière de prescription d'explorations isotopiques.

II - Les systèmes de détection : les gamma-caméras et les caméras à positons

Le principe des explorations scintigraphiques est donc de déterminer, et le plus souvent de visualiser sous forme d'images, la biodistribution dans l'organisme d'un radiopharmaceutique préalablement injecté ou administré par voie orale ou par voie locale. Pour cela, on a besoin d'un système de détection de la radioactivité, capable de repérer la présence des molécules marquées mais également de les localiser dans deux directions (images planaires) ou mieux dans l'espace tridimensionnel (tomographie).

La possibilité d'obtenir une information significative par cette méthode repose avant tout sur la notion de contraste, qui correspond à la différence du nombre de « coups » détectés dans deux régions de l'image. Cette notion de contraste recouvre celle de rapport signal/bruit qui permet une appréciation quantitative de la qualité de l'image.

1. La détection des photons gamma : la gamma-caméra d'Anger (émission monophotonique)

Le problème consiste à transformer l'énergie émise (photons γ) en une forme mesurable et exploitable, c'est-à-dire, en pratique, en courant

électrique ; envisageons les étapes par lesquelles la technologie parvient à résoudre ce problème :

- Pour détecter les rayonnements γ , il faut « arrêter » les photons, c'est-à-dire absorber leur énergie ; ceci est possible par interaction avec la matière en interposant un matériau adéquat sur le trajet des photons γ que l'on veut détecter.

- L'énergie déposée dans ce matériau doit pouvoir être recueillie ; elle ne doit pas être convertie de façon quelconque, par exemple en chaleur, car on serait incapable de la mesurer. La solution est de transformer l'énergie des photons γ en lumière, c'est-à-dire en nombreux photons de moindre énergie (*photons lumineux*) ; ceci est possible en utilisant comme matériau d'arrêt des photons γ un matériau scintillant ; on entend par là un matériau dont les atomes, excités par interaction avec les photons γ , retournent à leur état de repos par émission de lumière : on parle de scintillateur solide.

Ceci fait beaucoup de contraintes, mais il se trouve que de tels matériaux existent ; l'un d'eux offre des avantages qui font qu'il est de loin le meilleur candidat actuellement pour la détection en Médecine Nucléaire : il s'agit du cristal de iodure de sodium (NaI). Ce cristal est *l'élément fondamental de toute la chaîne de détection*.

À ce stade, le problème devient relativement plus simple puisque, à la différence des photons γ trop énergétiques, il existe une solution technique pour convertir les photons lumineux en courant électrique, grâce à un appareil appelé photomultiplicateur. Les signaux électriques qui sortent du photomultiplicateur peuvent alors être traités par un système électronique et l'information devient exploitable. L'électronique associée est complexe et joue un rôle très important pour les étapes suivantes : en effet une fois résolu le problème de la détection proprement dite, il faut envisager la sélection de l'information, puis sa localisation uni-, bi- ou tri-dimensionnelle.

a) La chaîne de détection

La chaîne de détection est décrite dans la figure 1.

- Le cristal scintillant

Comme nous l'avons déjà signalé, son rôle est essentiel : il est de convertir l'énergie des photons γ en énergie lumineuse (c'est un scintillateur solide). Il doit remplir plusieurs conditions :

- avoir un bon « pouvoir d'arrêt » pour les photons γ , c'est-à-dire un coefficient d'atténuation élevé, ce qui impose un poids atomique élevé

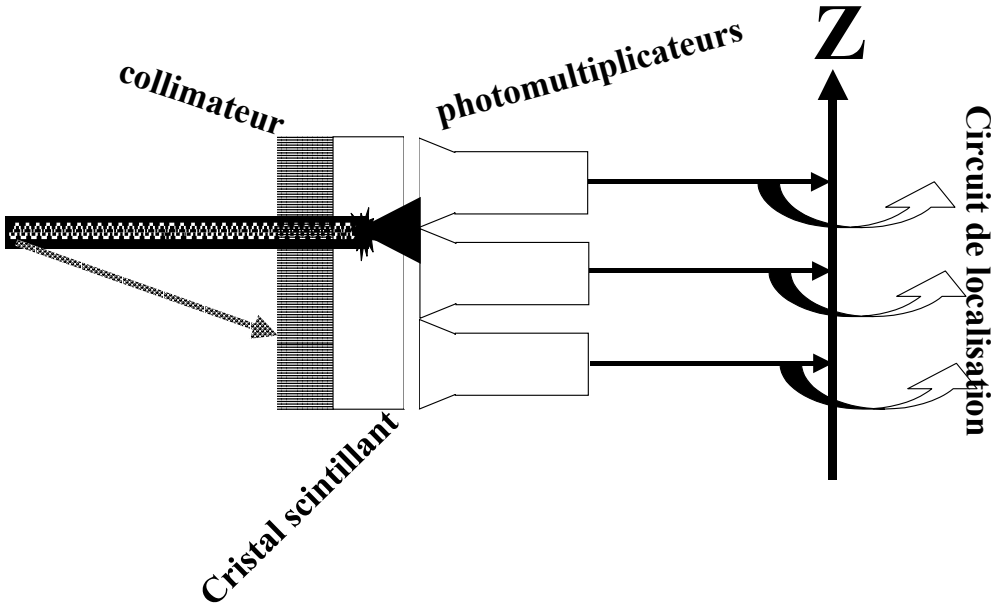


Figure 1

La chaîne de détection

- réémettre l'énergie absorbée sous forme de lumière (photons lumineux, d'énergie beaucoup plus faible que les photons γ), ce qui définit un scintillateur
- être transparent à sa propre lumière de réémission, afin que celle-ci puisse s'échapper pour être exploitée
- pouvoir être usiné dans des dimensions suffisantes (champ actuel des caméras de l'ordre de 50 cm x 40 cm)
- être suffisamment stable dans le temps
- avoir un coût compatible avec une production en série.

Le matériau qui, encore actuellement, réalise le meilleur compromis entre toutes ces conditions, est le iodure de sodium (NaI) « dopé » au thallium. Grâce au poids atomique de l'iode ($A=127$), le pouvoir absorbant est satisfaisant jusqu'à 300 keV ; la lumière réémise l'est sous forme de photons peu adaptés au rendement de la photocathode : c'est ce qui justifie la présence d'impuretés de thallium. En effet, le thallium absorbe les photons émis par le NaI et « réémet » une fraction constante sous forme de photons ultra-violets de 3 eV (4150 Å) auxquels le cristal est transparent.

Il faut noter que le cristal réalise une multiplication photonique : pour un photon γ déposé, il y a émission de très nombreux photons lumineux, malgré une perte considérable : environ 40 photons par keV déposé dans

le cristal (rappelons qu'un photon du technétium 99m fait 140 keV). Environ 30 % de cette lumière est transmise à la chaîne de détection.

- Les photomultiplicateurs (PM)

Leur rôle est de convertir l'énergie lumineuse qui sort du cristal en signal électrique qui puisse être exploité dans des circuits électroniques. Ceci est permis par l'association de plusieurs éléments, placés dans le vide pour permettre la circulation des électrons. Le premier élément, placé au contact du cristal, est la photocathode, mince feuille métallique à laquelle les photons lumineux sont capables d'arracher des électrons. Ces électrons sont attirés vers une première dynode, grâce à une haute tension qui est appliquée entre celle-ci (chargée positivement) et la photocathode ; l'accélération ainsi imprimée aux électrons font que ceux-ci vont en arracher un bien plus grand nombre à la dynode. On trouve ensuite plusieurs dynodes en cascade, sur lesquelles le même phénomène se répète, les dynodes successives étant portées à des potentiels de plus en plus élevés. De dynode en dynode, on obtient donc une cascade d'électrons de plus en plus intense (phénomène d'amplification), qui aboutit finalement à un courant électrique mesurable. Ce courant est collecté par le dernier élément qui est l'anode ; on dispose alors d'un véritable signal électrique.

- Notion de proportionnalité

Il est fondamental de noter que le nombre de photons lumineux générés dans le cristal est proportionnel à l'énergie, que la fraction de photons qui atteignent la photocathode est constante et que la quantité d'électrons arrachés à la photocathode est proportionnelle à l'énergie lumineuse qui atteint celle-ci. Cette proportionnalité est maintenue tout au long de la succession des dynodes de sorte que, finalement, l'amplitude de l'impulsion électrique à la sortie du PM est proportionnelle à l'énergie déposée par le photon γ incident.

b) La sélection de l'information

On souhaite cartographier les *centres d'émission* (représentatifs de la concentration du radiopharmaceutique en chaque point) en écartant les *centres de diffusion* (qui ne sont pas informatifs). Ce double objectif recouvre deux notions : la collimation et l'analyse spectrométrique. La nécessité de sélectionner l'information peut être illustrée par les schémas de la *figure 2*.

- La collimation et les collimateurs

Le collimateur, placé immédiatement devant le cristal, a pour fonction de sélectionner les photons dans une seule direction, en pratique

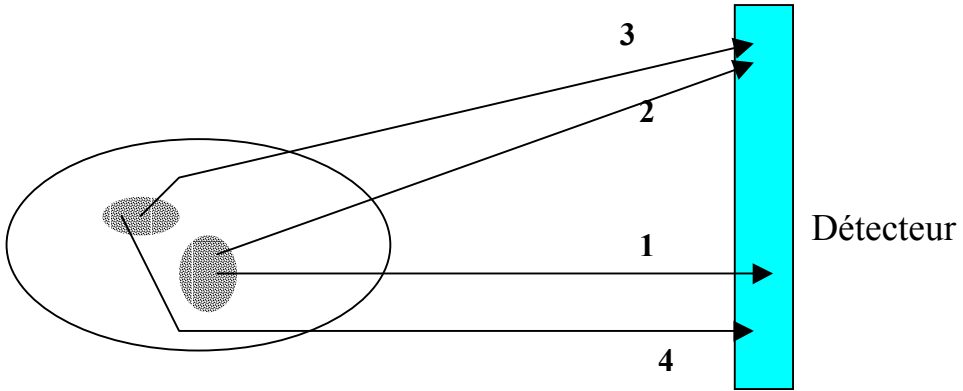


Figure 2

1. photon direct arrivant perpendiculairement au détecteur (à prendre en compte)
2. photon direct arrivant non perpendiculairement au détecteur (à rejeter : rôle du collimateur)
3. photon diffusé, arrivant non perpendiculairement au détecteur (éliminé par le collimateur)
4. photon diffusé, arrivant non perpendiculairement au détecteur (non arrêté par le collimateur mais rejeté grâce à la spectrométrie, car d'énergie inférieure à celle du photon primaire).

les photons qui arrivent perpendiculairement au cristal. Il doit donc éliminer en totalité les autres photons (ayant une autre direction), c'est pourquoi il est constitué d'un matériau très absorbant pour les photons gamma, en pratique le plomb.

Un collimateur est une plaque de plomb dans laquelle sont ménagés des trous orientés perpendiculairement au cristal, destinés à laisser passer les photons utiles ; les trous sont séparés par ce qu'on appelle les septa (cloisons). Le collimateur d'un simple détecteur comporte un seul trou ; les collimateurs destinés aux caméras à grand champ sont plus complexes puisqu'ils comportent de nombreux trous répartis sur toute la surface de détection. On doit alors prendre en compte les paramètres suivants qui définissent le type de collimateur et conditionnent ses performances : nombre de trous par unité de surface, épaisseur des septa, diamètre des trous (ronds ou, maintenant de plus en plus, hexagonaux) et hauteur des trous (qui correspond à l'épaisseur de collimateur). Il est clair que les trois premiers de ces paramètres ne sont pas indépendants.

Les caractéristiques d'un collimateur donné jouent sur la sensibilité et la résolution spatiale de la caméra : plus les trous sont larges et nombreux (donc les septa minces...) et de faible hauteur, plus la sensibilité est favorisée (plus de photons parviennent au cristal), mais au détriment de la résolution. On parle de collimateur haute sensibilité-basse résolution. Un tel collimateur peut être utilisé uniquement avec des photons de basse énergie, c'est pourquoi on parle aussi de collimateur basse énergie. À

l'inverse, plus les trous ont une hauteur élevée et un diamètre réduit et moins ils sont nombreux (on a donc des septa épais), moins on favorise la sensibilité (beaucoup de photons utiles vont rencontrer un septum) mais meilleure est la résolution. Ce type de collimateur est indispensable avec les photons très énergétiques. On parle de collimateur basse sensibilité-haute résolution, ou encore haute énergie.

Les fabricants peuvent combiner les paramètres pour réaliser de nombreux collimateurs différents, caractérisés par une sensibilité et une résolution adaptées au type d'examen qu'on veut réaliser (a-t-on besoin d'une image très précise ou préfère-t-on compter le maximum de photons...?) et adaptés à une gamme d'énergie relativement précise (basse, moyenne, haute). Il faut retenir qu'il s'agit dans tous les cas d'un compromis qui doit être le moins pénalisant possible ; en effet, bien qu'indispensable, le collimateur représente une limitation majeure des performances d'une gamma-caméra puisqu'il revient à interposer du plomb entre la source et le cristal de détection. Notons d'autre part que le collimateur et ses caractéristiques imposent la nécessité absolue de placer la caméra le plus près possible du patient. La qualité de l'examen en dépend directement. *Aucun traitement informatique ne peut ensuite corriger les défauts d'une acquisition réalisée à une trop grande distance du patient.*

- L'analyse spectrométrique : l'analyseur multicanaux

Cette analyse est indispensable pour éliminer correctement les rayonnements diffusés : nous avons vu que certains photons diffusés peuvent avoir la direction adéquate pour passer à travers les trous du collimateur. Il est d'autre part essentiel de comprendre que, en éliminant par analyse spectrométrique de tels photons diffusés, on élimine nécessairement en même temps des photons directs (correspondant donc à de l'information utile) mais qui interagissent partiellement, par effet Compton, dans le cristal : dans les deux cas en effet, l'énergie déposée dans le cristal est inférieure à l'énergie du photon d'origine. Autrement dit on souhaite ne prendre en compte, pour construire le résultat (l'image scintigraphique), que les phénomènes d'absorption totale des photons parvenus intacts (sans diffusion) au cristal.

Il faut rappeler comment est construit le spectre en énergie d'un émetteur gamma (figure 3) :

- on dispose en abscisse l'énergie déposée dans le cristal et en ordonnée le nombre d'événements détectés par unité de temps
- il n'est pas possible, pour des raisons techniques, de tracer la courbe en continu : c'est pourquoi on divise l'axe des abscisses en petits intervalles, chaque intervalle correspondant à un canal
- pour chaque événement détecté, l'amplitude de l'impulsion, qui correspond à l'énergie déposée, est comparée aux bornes des différents

canaux (d'où la dénomination d'analyseur multicanaux donnée à la partie de l'électronique qui effectue cette tâche) ; elle est alors comptabilisée dans le canal approprié

- au terme de la période d'acquisition (c'est-à-dire le temps pendant lequel sont détectés et comptés des événements), on a obtenu dans chaque canal un certain nombre d'impulsions qui indique la fréquence des événements correspondant à un dépôt d'énergie dans l'intervalle de valeurs correspondant à ce canal. C'est la juxtaposition de ces valeurs qui constitue le spectre d'énergie (voir figure 3). Celui-ci a une forme caractéristique, avec notamment un pic au niveau du nombre maximal d'événements : l'énergie correspondant à ce pic est celle des photons incidents intacts, c'est pourquoi on l'appelle pic d'absorption totale

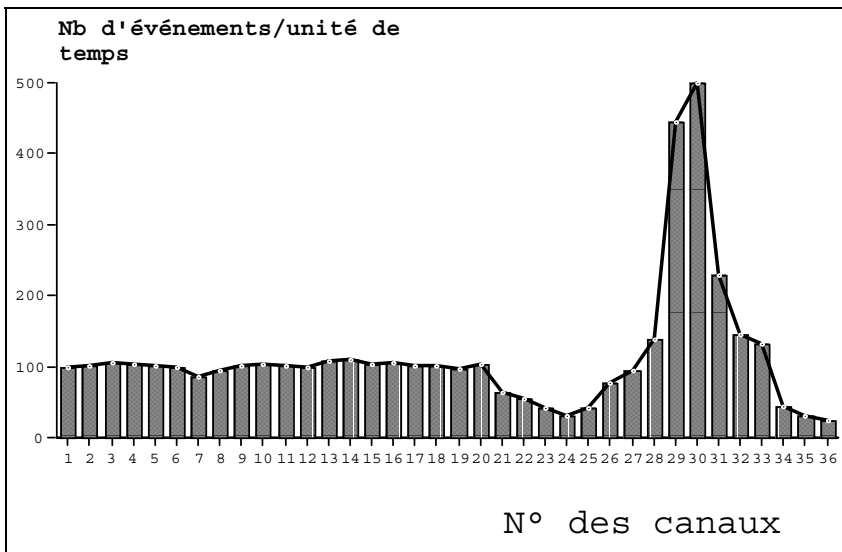


Figure 3 : spectre de détection d'une émission gamma

- en fait, ce sont les impulsions électriques à la sortie du détecteur qui sont mesurées et classées. Pour tracer le spectre en fonction de l'énergie, il faut procéder à un étalonnage : celui-ci consiste à faire correspondre à la valeur en mV de l'impulsion la plus fréquente (= pic) la valeur d'énergie (en eV) connue de l'émission gamma que l'on détecte. Ensuite, l'échelle d'énergie est établie facilement puisque nous avons vu qu'il y a proportionnalité entre l'énergie déposée dans le cristal et l'amplitude de l'impulsion électrique mesurée en fin de chaîne (autrement dit, l'étalonnage consiste à fixer le facteur de proportionnalité).

c) La localisation de l'information (c'est-à-dire des points d'où ont été émis les photons détectés)

Afin de localiser l'origine des événements détectés, donc de construire une image scintigraphique, il faut d'abord sélectionner les

photons de direction perpendiculaire au détecteur, comme nous l'avons vu, afin d'assurer une relation homothétique entre le volume détecté et le plan du cristal détecteur. Ceci est assuré par le collimateur. Puis il faut repérer les coordonnées de l'interaction dans le cristal. Ceci est assuré par la combinaison de plusieurs PM et un circuit de pondération.

Elle est réalisée en exploitant le fait qu'il y a plusieurs photomultiplicateurs et que chaque photomultiplicateur reçoit une certaine fraction de la lumière émise par le cristal lors de la détection d'un photon gamma : pour chaque point d'impact dans le cristal, la distribution de la lumière sur les différents photomultiplicateurs (c'est-à-dire la combinaison des parts relatives « vues » par chacun d'eux) est unique. Si l'on peut connaître cette distribution de la lumière, on peut en déduire les coordonnées de l'interaction dans le cristal.

Ceci est possible grâce à un circuit de pondération : chaque photomultiplicateur est connecté à une résistance dont la valeur permet son repérage. Les impulsions émanant de tous les photomultiplicateurs sont additionnées telles quelles, ce qui donne le signal « Z » dont l'amplitude mesure l'énergie déposée, puis pondérées à travers les circuits de pondération (il en existe un pour chacune des deux dimensions de l'image) ; la somme des valeurs pondérées « X » et « Y » à travers les résistances associées à chaque photomultiplicateur renseigne sur les coordonnées x et y de l'impact puisque, les résistances étant convenablement choisies, il existe pour chaque point d'interaction dans le cristal, un couple unique de valeurs de X et de Y. En réalité ce système est actuellement remplacé par des circuits électroniques permettant un traitement numérique direct des signaux, mais le principe reste le même : l'analyse de la distribution de l'énergie lumineuse sur plusieurs PM permet de connaître les coordonnées de l'interaction dans le cristal, c'est-à-dire du point d'émission de la lumière.

Ainsi, chaque événement détecté, après avoir été analysé selon son énergie (et retenu uniquement s'il s'inscrit dans la fenêtre retenue pour le « pic »), sera comptabilisé dans une mémoire correspondant au pixel (échantillon de l'image) où il s'est produit. L'ensemble de tous les pixels, représenté en fonction du nombre d'impulsions recueillies dans chacun, selon un code de couleurs, permet donc la construction d'une image scintigraphique, qui représente la distribution de la radioactivité dans la source.

d) Caractéristiques et performances d'une gamma-caméra

Il s'agit de donner une image fidèle de la distribution de la radioactivité, qui reflète la biodistribution du radiopharmaceutique dans l'organisme du patient. Un foyer faiblement actif doit être visible, ce qui correspond à la notion de sensibilité ; il faut détecter les variations

d'activité, ce qui correspond à la notion déjà évoquée de contraste et dépend de la capacité à identifier correctement, en tout point du cristal, les événements qui correspondent à une absorption totale. Ceci dépend directement de l'analyse spectrométrique et définit la *résolution en énergie*. Deux sources distinctes doivent pouvoir être distinguées et individualisées : c'est la notion de *résolution spatiale*, en partie dépendante du contraste, donc de la résolution en énergie. Enfin les rapports géométriques des différents centres d'émission doivent être conservés, ce qui se traduit par la *linéarité spatiale*. La propriété résultante, qui combine la sensibilité, la résolution spatiale (donc le contraste et la résolution en énergie...) et la linéarité spatiale est l'*uniformité de densité*.

Le comportement de la caméra doit rester le même quelle que soit l'activité de la source ; on est confronté au problème de *temps mort* et de *taux de comptage*.

À côté des caractéristiques données par le constructeur, qui s'imposent à l'utilisateur et ne peuvent plus être modifiées [caractéristiques du cristal (dimensions, homogénéité,...), caractéristiques des PM (géométrie, nombre, taille, forme, qualité,...), la qualité et les performances de l'électronique associée,...], les performances de la gamma-caméra dépendent avant tout du gain des photomultiplicateurs : celui-ci peut varier (selon la stabilité de la haute tension, la température,...) et surtout être différent d'un PM à l'autre. D'où des procédures de réglage indispensables et permanentes. Ceci recouvre la notion de stabilité électronique de la caméra : celle-ci fonctionne correctement *si tous les PM ont un rendement opto-électrique identique et stable dans le temps*.

Il faut distinguer les propriétés intrinsèques, c'est-à-dire obtenues sans collimateur, et les propriétés extrinsèques, qui sont réalisées avec le collimateur. Si les propriétés intrinsèques sont inhérentes seulement à la caméra elle-même, les propriétés extrinsèques dépendent aussi du collimateur, dont on sait qu'il est l'élément limitant, et varient selon le collimateur utilisé.

2. Les caméras à positons et la tomographie par émission de positons (TEP)

Les noyaux émetteurs de positons, en excès de charge positive, se désintègrent par transformation d'un proton en neutron. Cette transformation s'accompagne de l'émission d'un positon (de la masse d'un électron et de même charge en valeur absolue, mais positive) et (ce qui respecte la loi de conservation de l'énergie) d'un neutrino. Le positon émis parcourt quelques millimètres dans la matière en abandonnant par interactions successives son énergie cinétique ; lorsqu'il est pratiquement au repos, il se produit avec un électron du milieu une réaction

d'annihilation dans laquelle la masse des deux particules est transformée en leur équivalent énergétique, soit 1,022 MeV répartis en deux photons de 511 keV (appelés photons d'annihilation) émis simultanément selon des directions opposées.

La distribution d'une molécule marquée par un émetteur de positons est étudiée en combinant la détection en coïncidence des photons d'annihilation et les principes de la tomographie : c'est la technique de Tomographie par Émission de Positons ou TEP. Un avantage majeur est qu'un collimateur n'est pas nécessaire, puisque la coïncidence renseigne sur la direction de l'émission, et qu'on prend en compte toutes les directions au lieu d'en sélectionner une seule. La détection est assurée dans les caméras dédiées par une couronne de détecteurs (cristaux scintillants couplés à des photomultiplicateurs) indépendants. Sur les appareils les plus récents et les plus performants, les détecteurs sont agencés en une série d'anneaux complets couvrant une quinzaine de cm dans la direction axiale et produisant simultanément entre 35 et 63 coupes pour l'étude du corps entier. Il est nécessaire d'éliminer les photons diffusés par spectrométrie, et également d'éviter le phénomène de coïncidences fortuites propres à la TEP.

La détection monophotonique et la TEP ne sont pas en concurrence, elles permettent l'une comme l'autre d'étudier la biodistribution de molécules marquées : le marquage par un émetteur gamma ou par un émetteur de positons dépend des propriétés chimiques et biologiques de la molécule, dont le choix est imposée par le processus que l'on souhaite étudier.

La détection simultanée, dite « en coïncidence » (en pratique dans un intervalle de temps ou fenêtre de coïncidence de quelques ns), de ces deux photons permet une détection très efficace, et simple dans son principe, des émetteurs β^+ , malgré la lourdeur et le coût de l'appareillage nécessaire. Ces propriétés confèrent aux émetteurs de positons d'une part des avantages, mais expliquent d'autre part les difficultés qu'a rencontré la diffusion de la méthode, qui se met seulement en place en France. Les avantages sont la possibilité de s'affranchir du collimateur (élément très pénalisant dans les chaînes de détection monophotonique) et d'avoir une atténuation dans les tissus qui ne dépend pas de la profondeur (permettant, au moins en théorie, une correction d'atténuation exacte). La diffusion est également très peu pénalisante, puisque la diffusion d'un des deux photons émis conduit à une absence de coïncidence et à l'élimination de l'événement ; ceci est partiellement altéré par un autre phénomène, propre à la détection de positons, qui est la survenue de coïncidences fortuites ; si deux photons de 511 keV issus de deux désintégrations distinctes sont détectés en même temps, ceci sera interprété par le circuit

de coïncidence comme un événement virtuel comptabilisé avec des coordonnées erronées.

Les difficultés sont tout d'abord la période physique courte des émetteurs β^+ . Elle est cependant de 112 mn pour le fluor 18, ce qui est relativement long par rapport à celle d'autres émetteurs de positons (20 mn pour le carbone 11 et 2 mn pour l'oxygène 15), et permet d'envisager la distribution industrielle de molécules marquées au fluor 18. La seconde difficulté est la nécessité d'un appareillage de détection particulier, dont le parc en France, très limité jusqu'en 2000, est seulement en train de se développer, avec un retard considérable compte tenu de l'intérêt de la méthode.

Les caméras à positons dédiées (« caméras TEP ») connaissent actuellement une évolution très rapide, qui tient aux cristaux utilisés, à la technologie multi-anneaux et au mode d'acquisition 3D, aux méthodes de correction d'atténuation et enfin aux méthodes de reconstruction. Les cristaux de détection possibles sont actuellement le germanate de bismuth (BGO), utilisé depuis plusieurs années, et des cristaux plus performants comme l'orthosilicate de gadolinium (GSO) et l'orthosilicate de lutétium (LSO). Ces derniers, dont l'émission lumineuse est plus intense et plus rapide, permettent une qualité accrue des examens, réalisés dans des temps plus courts, en permettant notamment de travailler avec une fenêtre de coïncidence réduite (6 ns au lieu de 12 ns).

III - Conclusion

Les principes physiques de détection des rayonnements gamma sont utilisés pour la réalisation d'appareils qui permettent de suivre des molécules radioactives dans l'organisme. Ces appareils, de plus en plus performants, sont essentiels au développement de la Médecine Nucléaire, discipline médicale en plein essor grâce à la mise sur le marché de radiopharmaceutiques toujours plus nombreux.

La Physique Médicale : Débouchés et Métiers

Suzanne NAUDY
Service de radiothérapie
Centre G.F. Leclerc, Dijon
mél : SNAudy@dijon.fnclcc.fr

Suite aux découvertes des rayons X par W. Röntgen, de la radioactivité par H. Becquerel et du radium par P. et M. Curie, les applications médicales des rayonnements ont rapidement été mises en œuvre. Aujourd'hui, les applications de la physique médicale concourent soit au diagnostic soit au traitement dans les services de radiothérapie, de radiologie et de médecine nucléaire.

Néanmoins, pour le patient, si le bénéfice clinique de leur utilisation est évident, il n'en reste pas moins un risque lié à la dose. Ainsi, le physicien médical doit maîtriser la théorie de l'interaction des rayonnements avec la matière, la métrologie des rayonnements, la technologie de leur production et leurs applications cliniques.

Scientifique dans les structures de santé, soucieux de la radioprotection, le physicien médical a un rôle de pharmacien des rayonnements : délivrer la bonne dose (de rayonnement) pour le bon usage.

L'imagerie fonctionnelle EEG-MEG : principes et applications*

Bernard RENAULT et Line GARNERO

Unité de Neurosciences Cognitives et Imagerie Cérébrale

Université de Paris 6, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris

mél : Bernard.Renault@chups.jussieu.fr

I - Introduction

L'un des enjeux cruciaux du développement des neurosciences cognitives et cliniques est sans aucun doute notre capacité à suivre au cours du temps et à localiser précisément *in vivo* l'activité cérébrale humaine. Cette imagerie dynamique du fonctionnement de réseaux neuronaux distribués suppose une ou des techniques parfaitement atraumatiques, possédant à la fois une grande précision temporelle (la milliseconde au moins) et une grande précision de localisation (quelques mm³ environ).

Il existe essentiellement deux grandes classes de méthodes qui permettent ces études fonctionnelles du cerveau humain vivant : l'imagerie métabolique qui permet en particulier d'enregistrer les variations locales de débit sanguin grâce à l'IRM fonctionnelle (IRMf) ou la TEP (Tomographie par Emission de Positons) et l'imagerie électromagnétique (EEG et MEG). Dans les deux cas, il est possible de repérer les zones du cerveau activées lors d'explorations fonctionnelles spécifiques, dans des tâches sensori-motrices et/ou cognitives complexes. Cependant, ces méthodes donnent des images différentes et complémentaires du fonctionnement cérébral :

- Au cours d'une tâche réalisée dans le cadre d'un protocole expérimental, l'IRMf enregistre les variations locales, *in situ*, de débit sanguin induites par la tâche ; ces variations de débit surviennent 2 à 3 secondes et durent 15 à 20 secondes après la présentation d'un stimulus ; leur enregistrement dépend d'un champ magnétique imposé par l'IRM. Au contraire, les méthodes électromagnétiques enregistrent directement, en temps réel, sur le scalp et donc **à distance** des sites actifs, les activités électriques et magnétiques des réseaux de neurones mis en jeu au cours de la tâche.

- L'activité hémodynamique ne peut être mesurée sur l'ensemble du volume cérébral qu'en 500 ms environ alors que l'EEG ou la MEG

* Cet article a déjà été publié en partie dans « L'IMAGERIE CÉRÉBRALE FONCTIONNELLE ÉLECTRIQUE ET MAGNÉTIQUE » HERMES, Collection Sciences Cognitives, Paris (2003).

enregistrent respectivement les variations de potentiel et de champ magnétique engendrés par l'activité électrique cérébrale toutes les millisecondes voire plus rapidement si besoin.

- La résolution spatiale est de l'ordre de quelques mm^3 avec l'IRMf de dernière génération ainsi qu'avec le MEG-EEG ; cependant, en MEG-EEG de nombreuses difficultés se posent pour localiser exactement les régions cérébrales à l'origine des signaux mesurés et une telle précision ne peut être obtenue que si une seule région de faible étendue contribue aux données MEG ou EEG (ce qui est rarement le cas).

Il est donc clair que tout plateau d'imagerie fonctionnelle cérébrale humaine doit au moins comprendre une IRM fonctionnelle et un MEG-EEG puisque ces appareils sont complémentaires et permettent de mesurer respectivement la position (répondre à la question Où ?) et les instants d'activation (répondre à la question Quand ?) des différents sites cérébraux mis en jeux lors des protocoles expérimentaux utilisés par les chercheurs. Au niveau international, ces techniques sont en plein essor, et un grand nombre de systèmes MEG-EEG de dernière génération sont installés dans de nombreux centres, le plus souvent à proximité d'un système d'IRMf. En France, un seul système tête entière, dédié à la recherche publique fondamentale et clinique, est opérationnel depuis fin 1998 à l'Hôpital de la Pitié-Salpêtrière à Paris où une IRMf de recherche devrait également être bientôt installée.

L'EEG, née en 1929, n'utilisait jusqu'à présent que peu de capteurs et s'intéressait surtout à l'information temporelle contenue dans les signaux recueillis sur les électrodes. La MEG n'est apparue que vers les années 1970, car les champs magnétiques cérébraux sont très faibles et n'ont pu être enregistrés qu'après le développement de capteurs très sensibles, à base de supraconducteurs basse température. Alors que l'EEG a été découverte et essentiellement utilisée par des neurophysiologistes, la MEG a été développée par des physiciens qui ont privilégié son utilisation pour l'imagerie en essayant de localiser l'origine des activités électriques donnant naissance aux signaux. Cette volonté a conduit au développement de systèmes possédant des nombres croissants de capteurs, aussi bien en MEG qu'en EEG, afin de pouvoir disposer de meilleures informations sur la distribution spatiale du potentiel et du champ magnétique afin d'en déduire une image tomographique de l'activité cérébrale. Cependant, si l'instrumentation a progressé, les méthodes de localisation sont encore du domaine de la recherche. En effet, étant donné les nombreuses difficultés posées par la reconstruction des sources, il n'existe pas à l'heure actuelle d'algorithmes de reconstruction des activités MEG-EEG fiables et précis contrairement à la TEP ou à l'IRMf.

II - Principes de la MEG et l'EEG

L'excitation d'un neurone à travers une synapse entraîne l'ouverture de canaux ioniques au niveau de sa membrane. La composition ionique étant différente à l'intérieur et à l'extérieur des cellules, l'ouverture des canaux engendre un mouvement de particules chargées dans le milieu intra- et extra-cellulaire. Les courants intracellulaires dits 'sources' ou 'primaires' sont à l'origine des champs électriques et magnétiques ; ils engendrent ensuite des courants extracellulaires dits secondaires ou volumiques qui maintiennent la conservation de la charge ; les lignes de courant ainsi formées se ferment après circulation dans le volume entier de la tête.

Le champ magnétique enregistré dans les systèmes MEG est dû à l'ensemble des courants sources et volumiques. Toutefois, la contribution des courants volumiques est en général beaucoup plus faible que celle des courants sources. Au contraire, les différences de potentiel mesurées entre deux électrodes en EEG sont dues aux lignes de courant circulant à la surface du scalp, et donc aux courants volumiques. De plus, les courants mesurables à la surface de la tête doivent résulter de **la mise en synchronie dans le temps et l'espace** d'assemblées de cellules comportant au minimum environ 10^5 neurones dans quelques mm³ de cortex ; ces assemblées sont typiquement contenues dans des macrocolonnes fonctionnelles d'environ 3mm de rayon sur 3mm de profondeur. Les courants résultant de l'activité d'une macrocolonne sont modélisés par un dipôle de courant dont la direction est donnée par l'orientation principale des dendrites –c'est-à-dire localement perpendiculaire à la surface corticale– et dont l'amplitude représente l'intégrale des densités de courant dans la colonne considérée. L'amplitude moyenne d'un dipôle résultant de l'activité synchronisée de 10^5 neurones est de l'ordre de 10 nA.m.

En MEG et en EEG, on distingue plusieurs types de dipôles de courant suivant leur direction : en particulier on désigne par source radiale un dipôle de courant ayant une direction perpendiculaire à la surface de la tête, ce qui correspond principalement aux activations des gyri du cortex (c'est-à-dire la surface apparente du cortex) ; au contraire, les colonnes de neurones disposées dans les sillons engendrent des dipôles « tangentiels » à la surface du crâne (figure 1). Ces deux types de sources ont des signatures très différentes en MEG et en EEG et toutes les sources d'orientations intermédiaires ont des signatures mixtes. Une caractéristique importante de ces courants est leur faible vitesse de conduction. Un potentiel postsynaptique qui engendre les courants source dure environ 10 millisecondes. Comme les signaux MEG ou EEG peuvent être échantillonnés à des fréquences supérieures au kiloHertz, ces deux techniques

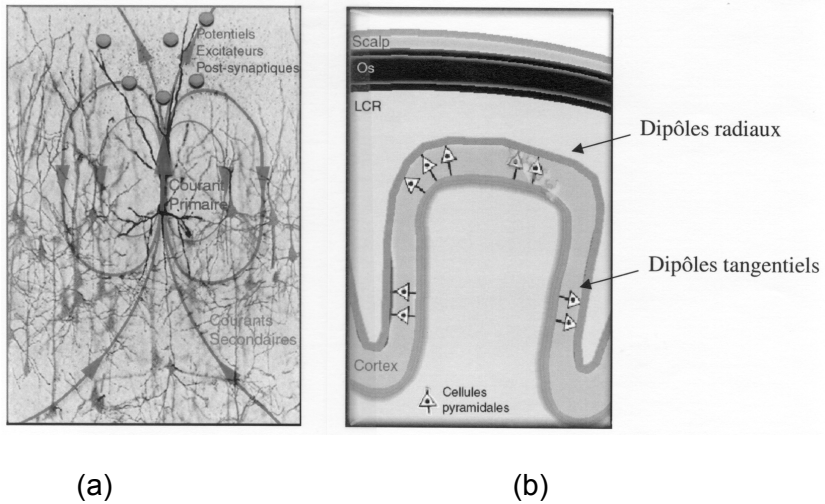


Figure 1 : (a) Courants primaires et secondaires au niveau de la macrocolonne de neurones pyramidaux. (b) Définition des dipôles radiaux et tangentiels. Les dipôles dont la direction est radiale par rapport à la surface du crâne sont produits dans les gyri du cortex, alors que les dipôles de direction tangentielle sont émis par les sillons. (d'après Baillet *et al.*, 2001)

sont les seules à pouvoir observer la dynamique de l'activité cérébrale de manière satisfaisante.

Le premier tracé EEG a été effectué en 1929 par le neurophysiologiste allemand Hans Berger qui a enregistré le rythme *alpha* d'un patient trépané. Le principe de mesure est resté le même jusqu'à nos jours, bien que les moyens techniques aient évolué. Il consiste à mesurer des différences de potentiel entre électrodes disposées à la surface de la tête, le contact électrique étant assuré par un gel conducteur. Le nombre d'électrodes utilisées peut être très variable, allant de 20 électrodes dans le montage international 10-20, longtemps utilisé pour la clinique, à des nombres plus importants (64, 128 voire 256), essentiellement rencontrés en neurosciences cognitives. Dans ce dernier cas, les électrodes sont disposées dans un bonnet posé sur la tête du patient alors que, pour des enregistrements de plusieurs jours comme c'est le cas en épilepsie, les électrodes sont collées directement sur le scalp. Étant donné qu'on ne peut pas mesurer de potentiel absolu, le choix d'une électrode de référence est indispensable. Quand la tension est mesurée entre deux électrodes successives, le montage est dit bipolaire. Le plus souvent, une seule électrode est utilisée comme référence pour l'ensemble des autres. Le choix de cette référence constitue l'une des limitations de l'EEG.

En neurosciences cognitives, la technique de moyennage des tracés EEG ou MEG est très souvent utilisée. En effet, en sommant les tracés issus de la répétition d'un même stimulus (ou de la même réponse motrice) dans la même tâche, il est possible de faire apparaître des

composantes spécifiques, appelées réponses évoquées, avec un bon rapport signal sur bruit, fonction du nombre de stimulus présentés. Une réponse évoquée (appelé potentiel évoqué en EEG et champ magnétique évoqué en MEG) comporte souvent des composantes précoces qui interviennent environ entre 20 et 150 millisecondes après le stimulus et qui sont principalement associées à la perception sensorielle du stimulus mais aussi à des comportements cognitifs tout comme le sont les composantes évoquées plus tardives. Grâce à cette technique, il a été possible d'étudier de nombreux processus sensoriels, moteurs ou cognitifs. Le moyennage qui s'effectue à travers tous les essais d'une même expérience, et même entre les sujets, suppose que les réponses cérébrales sont reproductibles d'un essai à l'autre et également entre les sujets, ce qui est une hypothèse forte. Actuellement, se développent des méthodes statistiques qui ne nécessitent plus de moyennage intra- ou inter-individuel et qui analysent les données propres à chaque sujet, essai par essai, afin d'extraire les propriétés dynamiques des signaux EEG (analyse temps-fréquence, synchronies entre différentes aires ou techniques d'analyse non linéaire).

Pendant longtemps, l'analyse de l'EEG n'a concerné que les propriétés temporelles des signaux, l'analyse spatiale se réduisant à l'établissement de cartes de potentiel obtenues à partir d'interpolations des mesures. L'information spatiale de l'EEG n'a été utilisée pour tenter de localiser les sources primaires que très tardivement. Ceci est dû au faible nombre d'électrodes utilisées et à la difficulté de relier mathématiquement les sources au potentiel enregistré (voir section suivante). C'est seulement avec l'avènement de la MEG et avec son utilisation comme méthode d'imagerie que des algorithmes de localisation sophistiqués ont été développés et que le besoin d'un nombre accru de capteurs s'est fait sentir. Pour autant, jusqu'à l'apparition de la TEP, l'EEG a été la seule méthode qui permettait de mesurer une expression de l'activité cérébrale et donc d'obtenir des informations fonctionnelles.

C'est en 1972 que David Cohen (physicien spécialiste des techniques de blindage au MIT) a effectué des enregistrements de champs magnétiques cérébraux, donnant ainsi naissance à la Magnétoencéphalographie. Cette découverte tardive est due aux très faibles valeurs des champs magnétiques cérébraux qui sont de l'ordre de la centaine de femtoeslas (10^{-15} T), c'est-à-dire 1 milliard de fois plus faible que le champ magnétique terrestre. La MEG s'est développée grâce à l'apparition de capteurs de champ magnétique très sensibles, à base de supraconducteurs basse température. Ces capteurs utilisent des bobines réceptrices de flux couplées à des anneaux supraconducteurs appelés SQUIDS (Superconducting Quantum Interference Device) qui transforment le flux magnétique en tension électrique et qui ont été inventés par Jacques Zimmerman en 1970. L'ensemble des capteurs est plongé dans de l'hélium liquide pour assurer le refroidissement des composants supraconducteurs et est confiné à l'intérieur d'un cryostat.

Les champs magnétiques du cerveau étant extrêmement faibles, ils doivent être isolés des champs magnétiques externes. À cet effet, un « blindage » peut se faire de différentes façons. Au niveau du capteur, la bobine réceptrice de flux est souvent un gradiomètre formé de deux ou plusieurs bobines couplées en opposition de phase, qui permet de mesurer le gradient du premier ou du second ordre du champ magnétique dans la direction radiale par rapport à la surface de la tête ou dans des directions tangentielles. L'opération de gradient élimine les champs magnétiques qui varient lentement dans l'espace, ce qui est le cas en général des champs externes parasites, alors qu'il perturbe peu les champs magnétiques cérébraux qui décroissent vite en fonction de la distance de la source. Des systèmes de correction supplémentaires sont apportés en mesurant le champ externe sur des capteurs éloignés de la tête et l'annulation de ces champs au niveau des capteurs MEG est réalisée grâce à un filtrage spécifique. La protection la plus efficace est cependant de placer le système de mesure dans une chambre blindée formée de parois en μ -métal qui atténue d'un facteur 10^3 à 10^4 les champs magnétiques extérieurs.

À cause de la chambre blindée et de la technologie des supraconducteurs basse température, la MEG est une technologie d'imagerie relativement coûteuse, du même ordre de grandeur que l'IRMf. Néanmoins, ces dernières années ont été les témoins d'avancées spectaculaires dans l'instrumentation. Alors que les premiers systèmes commercialisés ne comportaient que peu de capteurs –de l'ordre de 1 à 30– et ne couvraient qu'une partie du cerveau, trois compagnies (CTF, Vancouver ; BTI, San Diego fusionnée avec Neuromag, Helsinki) commercialisent à l'heure actuelle des systèmes comportant un casque de plus d'une centaine de capteurs SQUIDS, qui couvre la tête entière. De plus, ces nouveaux systèmes permettent des enregistrements simultanés MEG-EEG dont nous verrons ci-après les avantages. La figure 2 montre le système MEG-EEG de la compagnie CTF installé à la Pitié-Salpêtrière. Ce système comporte 151 capteurs MEG et offre la possibilité d'enregistrer simultanément 64 canaux EEG avec des fréquences d'échantillonnage pouvant atteindre 2,5 kHz.

La MEG et l'EEG n'ont pas la même sensibilité selon l'orientation des sources. Ainsi les sources radiales donnent un champ magnétique très faible, voire nul, alors qu'elles produisent des potentiels très élevés. De plus, le champ magnétique décroît plus rapidement avec la distance entre le capteur et le dipôle que le potentiel (respectivement en $1/R^2$ et $1/R$) et de ce fait, les contributions des sources profondes aux enregistrements effectués sur le scalp sont plus importantes en EEG qu'en MEG. La MEG et l'EEG ont donc des propriétés complémentaires qui justifient la nécessité d'effectuer des enregistrements MEG et EEG couplés afin de pouvoir

détecter avec la meilleure précision l'ensemble des générateurs quelles que soient leurs orientations et leurs profondeurs.

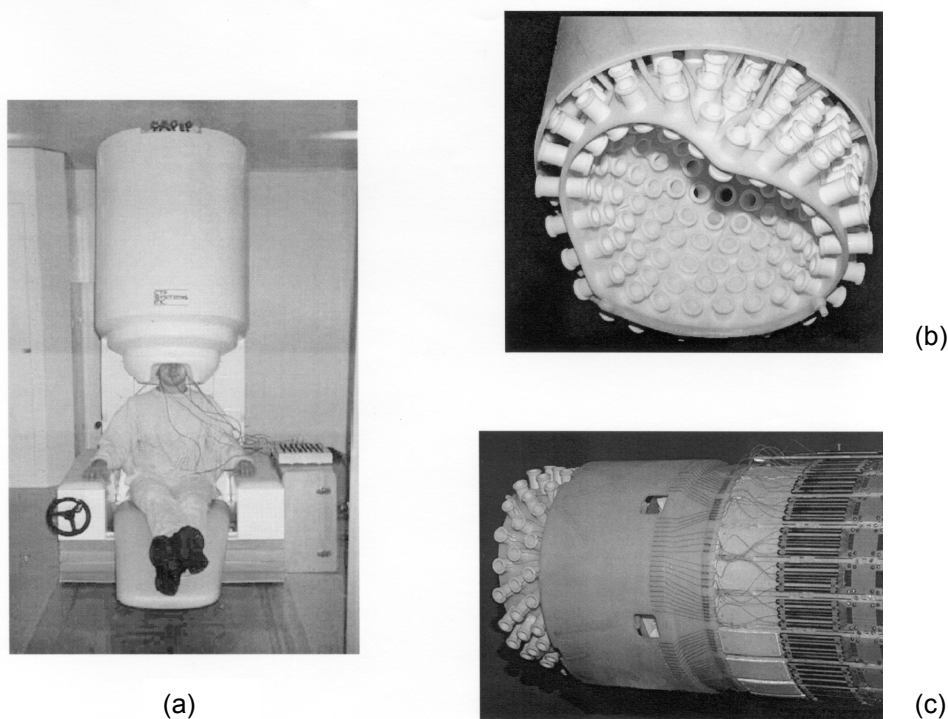


Figure 2 : (a) Le système MEG/EEG installé à l'Hôpital La Salpêtrière comportant 151 capteurs MEG et 64 canaux EEG. (b) Une photographie du casque portant les bobines réceptrices. (d'après CTF, Vancouver) (c) Un schéma du dispositif des capteurs avec l'emplacement des gradiomètres et le réservoir à hélium liquide.

III - La localisation des sources

Il est fréquent de détecter en TEP ou en IRMf les mêmes zones d'activation pour deux tâches cognitives différentes. Le seul moyen de mettre alors en évidence des modes de fonctionnements différents du cerveau si ils existent est d'étudier la dynamique d'activation spatio-temporelle des réseaux impliqués. La localisation des sources en MEG-EEG soulève de nombreuses difficultés et suscite actuellement d'intenses recherches.

Une première difficulté réside dans le **problème direct**, à savoir la modélisation de la production des champs magnétiques et des potentiels recueillis sur le scalp et engendrés par une configuration de sources connues. Ce problème nécessite la prise en compte de la géométrie et des propriétés de conduction de tous les tissus cérébraux. Or, les constituants du cerveau ont une géométrie complexe et d'autre part leurs conductivités

sont mal connues et difficiles à mesurer. De plus, le **problème inverse**, c'est-à-dire l'estimation des sources de courant en accord avec les modèles du problème direct et les données n'admet pas de solution unique en vertu de lois fondamentales de la physique (Helmholtz, 1853). En effet, des configurations de sources différentes peuvent donner à l'extérieur d'un volume conducteur les mêmes grandeurs électromagnétiques. Une autre difficulté est le faible nombre de mesures recueillies à un instant donné car même dans les systèmes les plus modernes il n'atteint guère plus de 300 mesures. En comparaison, le nombre de mesures utilisées en TEP ou en IRMf pour reconstruire les images tomographiques est de l'ordre de 100 000 à 1 000 000.

Il faut donc d'une part, développer des modèles réalistes pour le problème direct et, d'autre part, introduire des contraintes sur la recherche des sources ou introduire des informations a priori dans le problème inverse.

1. Le problème direct

Les courants secondaires, de conduction, sont proportionnels à la conductivité du tissu et au champ électrique qui règne en chaque point. Or le potentiel et le champ magnétique recueilli sur le scalp dépendent à la fois des courants primaires et des courants volumiques. Il est donc nécessaire de modéliser l'ensemble des structures cérébrales ainsi que leurs enveloppes et de connaître les valeurs locales de conductivité de chacun des milieux. Il existe dans la littérature une grande diversité des valeurs de ces conductivités qui, le plus souvent, ont été mesurées *in vitro* ou *in vivo* sur des animaux anesthésiés. Malgré l'hétérogénéité de ces valeurs, deux propriétés essentielles se dégagent : l'os du crâne a une conductivité beaucoup plus faible que l'ensemble des autres tissus (approximativement un rapport de 1/80) et sa conductivité est anisotrope c'est-à-dire que sa valeur dépend de la direction du courant. En effet, le crâne a une conductivité dans les directions tangentielles à sa surface environ 3 fois plus élevée que dans la direction radiale. On peut montrer que ces différences sont responsables de la grande diffusion des lignes de potentiel à la surface du scalp. Par contre, le champ magnétique n'est que très peu perturbé par les différences de conductivité entre les milieux et il est donc très peu déformé par la présence de l'os. C'est ce qui explique que la MEG a une meilleure définition spatiale que l'EEG ce qui se traduit sur le scalp par des réponses plus focales en MEG qu'en EEG.

Pour calculer de façon exacte les potentiels et les champs magnétiques produits par les activités neuronales, il est nécessaire de construire des modèles dits « réalistes » des différents tissus de la tête. Ces modèles se construisent pour chaque sujet individuellement à partir de leur IRM anatomique. Des méthodes de traitement d'images permettent alors d'extraire les différentes structures cérébrales. Pour le problème

direct en EEG et en MEG, les structures d'intérêt sont la peau, l'os du crâne et la moelle osseuse, le liquide céphalo-rachidien, la matière blanche et la matière grise. Cependant des modèles simplifiés supposent trois milieux de conductivité homogène : la peau, l'os et l'espace intracrânien. Les calculs de champ et de potentiel nécessitent la construction de maillages des interfaces entre les différents milieux. La figure 3(a) montre un exemple de ces maillages des surfaces de la peau et des surfaces externes et internes de l'os obtenues à partir d'une image anatomique d'un sujet. Les figures 3(b,c,d) montrent le champ magnétique, produit par une source située dans le cortex auditif, sur les trois interfaces calculées à partir de ce modèle ; les figures 3(e,f,g) montrent le potentiel produit par la même source. Il est clair que le champ magnétique n'est que très peu déformé par les différents milieux alors que le potentiel est très diffusé par la mauvaise conductivité osseuse.

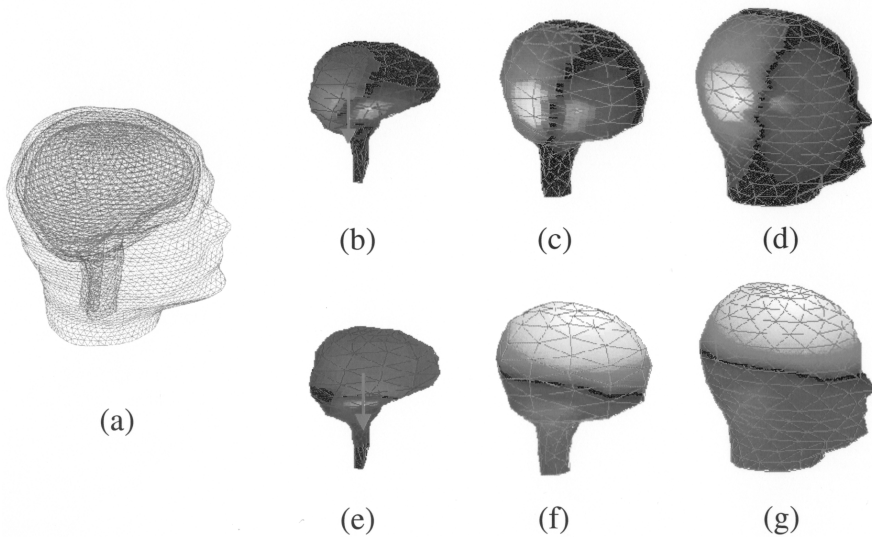


Figure 3 : (a) modèle réaliste, (b,c,d) champ magnétique et (e,f,g) diffusion du potentiel.

2. Le problème inverse

Le problème inverse en MEG ou EEG a donné lieu à d'intenses recherches ; les différentes approches utilisées varient en fonction des caractéristiques du modèle de sources considéré. Le problème inverse, appelé reconstruction dans les autres méthodes d'imagerie tomographique, consiste à estimer la distribution des sources de courant ayant produit les champs magnétiques et/ou les potentiels électriques mesurés à la surface du scalp, chaque source est représentée par un dipôle de courant caractérisé par six paramètres (trois pour la position, deux pour l'orientation et un pour l'amplitude).

Étant donnés le faible nombre de données et la non-unicité de la solution, il est nécessaire de restreindre l'espace de recherche des solutions, en faisant des hypothèses *a priori* sur la répartition des sources. Les **méthodes dipolaires**, qui ont été les premières utilisées et qui sont les plus employées encore à l'heure actuelle, considèrent que l'activité électrique cérébrale est concentrée dans un petit nombre d'aires dont la dimension est petite comparée à leur distance aux capteurs. L'activité dans chacune des aires peut donc être assimilée à celle d'un seul dipôle, le dipôle de courant équivalent, dont on cherche les paramètres qui minimisent l'erreur de moindre carré (encore appelée variance résiduelle) entre les champs mesurés et ceux qui seraient produits par la configuration de sources estimées. Ces champs sont calculés par le problème direct. Le cas le plus simple est celui où l'on considère un seul dipôle ou équivalent dipolaire ; mais en fait il est le plus souvent nécessaire de considérer l'existence de plusieurs dipôles et plus ce nombre est important, plus le problème devient ambigu. En général, pour avoir une solution, le nombre de paramètres à estimer (soit 6 par dipôle) ne doit pas excéder celui du nombre des données. Par exemple, des données EEG recueillies dans le montage international utilisant 20 électrodes ne pourront pas être expliquées avec plus de 3 dipôles. Dans le cas de la MEG, comme les sources radiales sont silencieuses dans un modèle de tête sphérique, on ne recherche que des dipôles d'orientation tangentielle, ce qui réduit à cinq le nombre de paramètres à estimer par source. Bien que l'activité cérébrale ait une structure souvent complexe qui ne peut pas toujours être expliquée par des modèles dipolaires de source, il a été montré que ces modèles s'appliquaient bien aux composantes précoces des réponses évoquées et que les solutions trouvées étaient en général compatibles avec les connaissances neurophysiologiques des fonctions sensorielles ou motrices. Dans ces conditions, la précision de localisation peut être de quelques millimètres en MEG et un à deux centimètres en EEG. Une avancée significative dans les méthodes dipolaires a été introduite en traitant plusieurs échantillons temporels successifs dans le problème inverse [SCH86]. En effet, étant donné les temps d'évolution des potentiels post-synaptiques, il est peu vraisemblable que la distribution des sources varient fortement d'un échantillon du signal au suivant. Ainsi, les méthodes spatio-temporelles développées par Scherg et von Cramon considèrent que la position des sources reste fixe dans une fenêtre temporelle donnée, leurs paramètres de position étant ajustés en fonction de l'ensemble des données dans l'intervalle de temps considéré. Actuellement, tous les systèmes MEG sont accompagnés de logiciel utilisant également des algorithmes spatio-temporels. Cependant, les méthodes dipolaires ne peuvent pas expliquer des données qui traduisent l'activité de réseaux étendus de neurones. C'est pourquoi des méthodes utilisant des **modèles de sources distribuées** ont été développées pour s'affranchir des limitations des méthodes dipolaires. Ces approches s'inspirent des méthodes de reconstruction tomographique : elles considèrent un grand nombre de dipôles répartis régulièrement dans une partie ou dans la

totalité du volume cérébral. Des contraintes anatomiques peuvent alors être introduites en restreignant le volume de recherche à la surface corticale. Celle-ci peut être extraite à partir de l'IRM anatomique et « pavée » d'un grand nombre de dipôles. De plus, comme les courants sont émis par les dendrites de neurones disposés perpendiculairement au cortex, l'orientation de chaque dipôle peut être contrainte à être perpendiculaire à cette surface et seule l'amplitude des dipôles reste à déterminer [BAI 97]. La difficulté réside dans le fait que le nombre de dipôles est très grand et que la reconstruction de l'amplitude est alors un problème inverse sous-déterminé qu'il convient de régulariser en ajoutant des contraintes sur la forme des solutions. Une façon de réduire en partie cette indétermination est de combiner des signaux MEG et EEG dans un même problème inverse qui permet de mieux exploiter la complémentarité entre les deux jeux de données et de restreindre les ambiguïtés sur les solutions. La figure 4 présente un exemple de reconstruction de réseaux

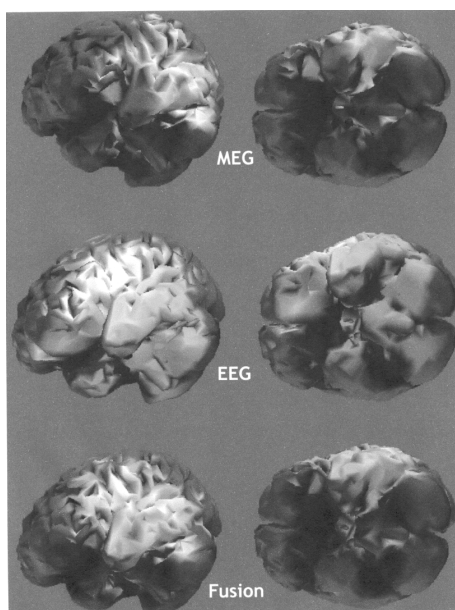


Figure 4 : La complémentarité de l'EEG et de la MEG est illustrée par ces reconstructions réalisés à partir des deux techniques d'enregistrement. Sur la reconstruction MEG (en haut), les zones activées sont plus restreintes que sur la reconstruction EEG (au milieu). Ceci est dû au fait que les assemblées de neurones situées dans la profondeur du cerveau contribuent très peu aux signaux MEG, tandis que la mauvaise résolution spatiale de l'EEG « lisse » à l'excès les zones réellement activées. La combinaison des deux types de données (en bas) révèle des zones difficilement détectables par chacune des méthodes utilisée séparément.

épileptogènes à partir de l'apparition de pointes intercritiques dans les signaux MEG et EEG. La ligne du haut représente les régions activées sur une vue de côté et de dessous du cortex, estimées à partir de signaux MEG, celle du milieu représente les zones reconstruites à partir de signaux

EEG enregistrés simultanément à ceux de la MEG, enfin, la ligne du bas, les zones reconstruites en utilisant les deux jeux de données. Le réseau activé reconstruit en MEG est plus restreint que celui reconstruit en EEG. Ceci est dû au fait que les sources profondes et radiales ne contribuent que très peu aux signaux MEG et que la mauvaise résolution spatiale de l'EEG entraîne des reconstructions très lissées des zones réellement activées. La fusion entre les deux jeux de données permet à la fois d'estimer des zones qui sont difficilement détectables en MEG et d'obtenir des distributions plus focales des activations.

IV - Les applications en neurosciences cognitives

L'EEG et la MEG permettent de localiser les aires de projection sensorielle primaire (visuelles, auditives et somesthésiques) et de mettre en évidence leur organisation rétinotopique, tonotopique et somatotopique, ainsi que la plasticité de ces organisations. Ils permettent également d'étudier la transmission de messages sensoriels vers le système moteur ainsi que la synchronisation de l'activité de réseaux neuronaux distribués dans différentes régions cérébrales fonctionnellement interdépendantes. Leur utilisation en neurosciences cognitives permet d'étudier la perception et l'action, le langage, la mémoire, l'apprentissage, l'attention, etc. Enfin, le caractère totalement non invasif de ces techniques permet d'effectuer des recherches chez l'homme normal, au cours du développement et du vieillissement, ainsi que chez des patients psychiatriques ou neurologiques. Le champ des applications de la MEG-EEG est donc très étendu.

Dans cette dernière section nous présentons plus spécialement des résultats récents portant sur le codage des représentations du corps et plus particulièrement sur la plasticité de ces représentations. Il est en effet tout à fait extraordinaire de constater combien le vécu **conscient** de certaines pathologies s'accompagne de modifications **non conscientes** des représentations du corps qui peuvent à nouveau se modifier en fonction du processus thérapeutique.

Les premiers travaux réalisés en MEG sur l'étonnante plasticité des représentations corticales du corps datent seulement de 10 ans [MOL 93]. Ces chercheurs ont travaillé sur des adolescents atteints de syndactylie, malformation congénitale des mains dont seules les premières phalanges des doigts sont présentes mais soudées les unes aux autres ce qui ne permet pas d'exécuter l'opposition du pouce et de l'auriculaire et donc les rend incapables de se servir des objets usuels. Ces patients sont opérés à l'adolescence et les phalanges sont séparées par chirurgie de sorte que l'opposition pouce/petit doigt puisse s'effectuer. En fait, chez des adolescents normaux, le MEG permet de tracer très précisément la position des représentations des doigts dans le cortex sensoriel primaire et d'observer, sur une distance d'environ 2cm, un ordonnancement des représentations distinctes de chacun des 5 doigts, du pouce jusqu'à

l'auriculaire. Chez les adolescents atteints de syndactylie, les représentations de leurs doigts sont indifférenciables les unes des autres. Cependant, en moyenne 24 jours après l'opération, après avoir appris à réaliser l'opposition pouce/auriculaire et à prendre des objets dans leur main, les positions des représentations de leur pouce et de leur auriculaire deviennent clairement distinctes et se situent dans le cortex aux mêmes emplacements que chez des sujets contrôles.

Cette plasticité étonnante des représentations fines du corps existe aussi chez l'adulte en particulier chez les patients amputés des membres qui se plaignent très souvent de douleurs associées à la sensation de « membre fantôme ». Celle-ci, parfois extrêmement désagréable, est souvent provoquée par le toucher du visage, lors du maquillage chez la femme ou du rasage chez l'homme. Jusqu'à une époque récente, on conseillait à ces patients d'accepter la perte de leur membre et d'en faire le deuil sans que ce soutien psychologique modifie réellement leurs douleurs. En fait, les travaux de [FLO 95] en MEG et ceux de Ramachandran ont clairement montré que, bien au contraire, les thérapies qui pouvaient être efficaces devaient permettre au patient de conserver une représentation mentale consciente et active du membre amputé. En effet, Flor et al. ont montré que le territoire cortical qui était occupé par le bras amputé était en fait littéralement colonisé, après l'amputation, par les représentations du visage du patient [FLO 95] ; de plus, ils ont également montré que la douleur du membre fantôme était d'autant plus forte que ce degré de colonisation était fort. Comme on sait par ailleurs que toute représentation mentale du corps en mouvement évoque des activités neuronales identiques en grande partie aux activités enregistrées pendant l'acte moteur lui-même, cet ensemble de résultats a permis de suggérer des thérapies nouvelles où la colonisation des territoires corticaux par des représentations inadéquates est rendue impossible en gardant une représentation mentale vivace du membre absent. De fait, cette rééducation est efficace dans un grand nombre de cas. D'ailleurs, très récemment, il a été montré [GIR 01], en utilisant cette fois-ci l'IRMf, chez un patient amputé des deux mains et dont les représentations corticales des mains avaient disparu au profit d'extensions des représentations du visage, qu'après la greffe de deux nouvelles mains, les représentations corticales des mains reprenaient leurs places initiales en réoccupant les territoires corticaux qui leur appartenaient.

Les travaux récents effectués dans ce domaine de la plasticité des représentations corticales du corps au centre MEG-EEG de la Pitié-Salpêtrière [MEU 01] sont également exemplaires des progrès réalisés dans la compréhension des mécanismes de la dystonie et en particulier de la crampe de l'écrivain, maladie parfois très handicapante et très difficile à rééduquer. La dystonie a un large spectre clinique, de la forme précoce et généralisée, dont l'origine génétique est établie, aux formes tardives, dont l'origine génétique est inconnue. Pour ces dernières, le rôle important de la

répétition des tâches a souvent été mis en avant dans l'apparition de la maladie bien qu'aucun trait de vulnérabilité n'ait pu être mis en évidence à ce jour. Nous avons récemment étudié 23 patients atteints de dystonie occupationnelle unilatérale (ne touchant strictement qu'une seule main) et comparé les représentations des doigts de leurs mains avec celles de 20 sujets normaux. L'hypothèse principale de ce travail était que la maladie devait modifier la représentation corticale des doigts de la main dominante : défaut d'ordonnement des doigts et/ou superposition des représentations de plusieurs doigts. Contrairement à cette hypothèse de travail, une faible désorganisation des représentations des doigts de la **main dominante et dystonique** a été en général observée sauf pour quelques patients très atteints. En revanche, une désorganisation drastique des représentations corticales de la **main non dominante et non dystonique** a été mise en évidence, cette désorganisation étant d'autant plus forte que l'expression de la maladie dans la main dominante était forte. L'interprétation que nous avons faite de ces résultats surprenants est que, dans l'hémisphère non dominant, **l'inné**, c'est-à-dire l'expression génique quasi pure de la maladie, est observé alors que les représentations quasi normales dans l'hémisphère dominant traduiraient des réorganisations bénéfiques **acquises** en réaction contre l'expression des gènes, sauf pour les quelques patients très atteints pour lesquels en quelque sorte les gènes l'emportent.

L'ensemble de ces études montre donc des variations plastiques des représentations corticales du corps qui sont produites par des interactions entre le comportement, l'expression des gènes et les effets correcteurs des thérapeutiques et de la rééducation. La puissance d'exploration du fonctionnement cérébral chez l'homme que nous donnent ces instruments commence donc littéralement à révolutionner notre conception d'un fonctionnement cérébral rigide et non plastique. Ces nouveaux instruments devraient aussi contribuer à mieux décrire et connaître, dans le futur, la part de l'inné et de l'acquis dans certains comportements.

Bibliographie

[BAI 97] BAILLET S., GARNERO L. « A Bayesian framework to introducing anatomo-functional priors in the EEG/MEG inverse problem », *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, 44, 374-385.

[GIR 01] GIRAUD P., SIRIGU A., SCHEINDER F., DUBERNARD J.M. « Cortical reorganization in motor cortex after graft of both hands », *Nature Neuroscience*, 4, 691-692.

[MEU 01] MEUNIER S., GARNERO L., DUCORPS A., MAZIÈRES L., LEHÉRICY S., TEZENAS DU MONTCEL S., RENAULT B., VIDAILHET M. « Human brain mapping in dystonia reveals both endophenotype traits and adaptative reorganization », *Annals of Neurology*, 50, 521-527.

[MOL 93] MOLGINER A., GROSSMAN J.A.I., RIBARY U. et al. « Somatosensory cortical plasticity in adult humans revealed by magnetoencephalography », *PNAS*, 90, 3593-3597.

[SCH 86] SCHERG M., VON CRAMON D. « Evoked dipole source potentials of the human auditory cortex », *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 65, 344-360.

[FLO 95] FLOR H., ELBERT T., KNECHT S., WIENBRUCH C., PANTEV C., BIRBAUMER N., LARBIG W., TAUB E. « Phantom-limb pain as a perceptual correlate of cortical reorganization following arm amputation », *Nature*, 375, 482-484.

Imagerie médicale : les techniques photoniques de l'UV aux IR

Serge MORDON

Pavillon Vancostenobel, CH&U de Lille

EA 2689 - Inserm IFR 114, Lille

mél : mordon@lille.inserm.fr

Les techniques photoniques offrent aujourd'hui une approche performante en imagerie médicale. La lumière peut schématiquement s'utiliser de trois manières : i) émission de photons et recueil de ceux qui traversent les tissus, ii) envoi de lumière sur un tissu et recueil des photons qui sont été ré-émis par un mécanisme de réflexion ou iii) ceux émis par un mécanisme de fluorescence. L'imagerie par transillumination est principalement utilisée pour la mammographie optique. L'imagerie de fluorescence est bien adaptée pour la détection précoce de tumeurs. La tomographie par cohérence optique (OCT) offre des performances uniques en terme de résolution spatiale.

Mots clefs : lumière, photon, image médicale, transillumination, fluorescence, tomographie

Introduction

Longtemps, l'accès à l'intérieur du corps humain a nécessité un acte chirurgical. Pour qu'un regard exercé puisse observer un organe, c'est-à-dire que la lumière réfléchiée par l'organe puisse être analysée par un œil humain, il fallait faire usage du bistouri. Grâce au développement des fibres optiques, nombre d'actes invasifs ont été éliminés. Par l'intermédiaire de l'endoscope, tout se passe comme si l'œil du médecin était transporté au sein des organes. Le moyen est spectaculairement efficace et a bouleversé nombre de pratiques médicales. Mais il ne donne pas accès à des caractéristiques des tissus qui, du point de vue de la lumière, soient différentes de celles qui sont simplement analysables par l'œil.

En revanche, des objets qui, à l'œil nu, demeureraient invisibles, sont révélés par plusieurs méthodes non invasives qui, selon les cas, font appel à des principes physiques forts différents : rayons X, résonance magnétique nucléaire, ultrasons ou émission de positons. Dans cette palette d'outils d'imagerie, la lumière s'est jusqu'à présent signalée par son absence : les photons de longueurs d'onde du visible ou du proche visible étaient inutilisables à cet effet. Mais, sous l'impulsion de progrès dans la technologie des sources de lumière et des détecteurs, la situation évolue rapidement.

La lumière offre un avantage considérable sur les rayons X : son innocuité. Cette propriété physique entraîne des conséquences potentielles

évidentes : simplicité de mise en œuvre des appareils, possibilité de renouveler l'examen sans risque, etc. Mais ne rêvons pas : à cause de sa forte absorption par les tissus biologiques, la lumière ne peut prétendre supplanter toutes les techniques existantes. Aujourd'hui, elle est considérée comme un complément utile, et seulement dans certains cas, un concurrent sérieux. Il est d'ailleurs difficile de parier sur le succès des diverses filières. Dans les laboratoires de recherche, l'heure est encore au foisonnement des principes techniques. Plusieurs applications ont suscité l'élaboration de prototypes, quelques-uns ont atteint le stade de l'évaluation clinique ; enfin certains ont conduit à de véritables appareils médicaux qui sont progressivement mis en œuvre dans les hôpitaux.

Pour obtenir des informations sur la présence de tumeurs dans des tissus biologiques, la lumière peut schématiquement s'utiliser de trois manières. La première consiste à émettre des photons et à recueillir ceux qui traversent les tissus. Au bout de leur parcours, l'analyse des diverses modifications qu'ils ont subies dessine une image de la structure interne traversée : l'ensemble des techniques fondées sur ce principe très général est regroupé sous le nom d'imagerie optique d'organes par transillumination. Mais on peut aussi, après l'envoi de lumière sur un tissu, recueillir les photons qui auront été ré-émis par un mécanisme de réflexion ou ceux émis par un mécanisme de fluorescence. Dans ces deux cas, source de lumière et détecteur sont placés du même côté du tissu.

Imagerie par transillumination

Avant d'entrer dans le détail de l'imagerie par transillumination, introduisons quelques notions fondamentales sur la propagation de la lumière dans les tissus. Le sort d'un photon incident peut être triple. Première possibilité (sans aucun intérêt du point de vue de la transillumination), le photon est réfléchi par la surface du tissu. Deuxième possibilité : il est absorbé à l'intérieur du tissu, c'est-à-dire qu'en cédant son énergie au milieu, il disparaît en tant que photon. Enfin, troisième possibilité, il est diffusé lors de son parcours au sein du tissu : en effet, la probabilité qu'il ne rentre pas en collision avec les molécules du milieu et qu'il poursuive une trajectoire rectiligne est très faible ; plus nombreuses sont les modifications de trajectoire, plus grande est la diffusion. Enfin, mentionnons que l'importance des trois phénomènes dépend fortement, d'un part, de la nature du tissu et, d'autre part, de la longueur d'onde du photon.

Pour faire de l'imagerie d'organes, il faut évidemment pénétrer en profondeur les tissus, donc choisir une longueur d'onde peu absorbée. C'est le cas des longueurs d'onde situées dans le rouge et le proche infrarouge : une « fenêtre optique » s'ouvre ainsi entre 600 nm et 1 300 nm (figure 1). Pour s'en convaincre, il suffit de regarder sa main placée devant

une ampoule électrique allumée : seul, le rouge « passe », les autres couleurs sont absorbées.

Le phénomène de diffusion, quant à lui, entraîne rapidement une perte de cohérence de la lumière émise par la source. Autrement dit, le détecteur ne sait plus d'où viennent les photons qui lui parviennent : l'image est floue et inutilisable. La diffusion augmentant naturellement avec l'épaisseur, la transillumination s'est trouvée longtemps limitée à des structures tissulaires ne dépassant pas quelques millimètres. Ce n'est plus le cas aujourd'hui : plusieurs techniques, reposant sur des principes différents, autorisent la constitution d'images correctes sur quelques centimètres d'épaisseur [1].

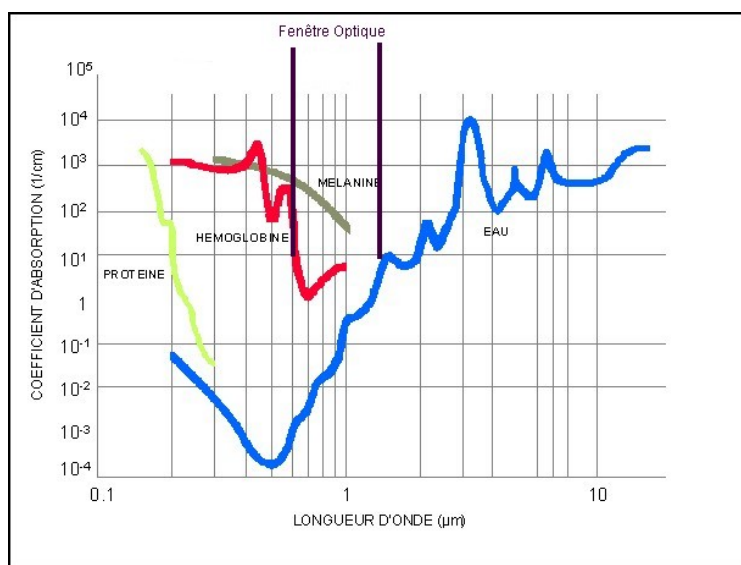


Figure 1 : Spectres d'absorption de différents chromophores présents dans les tissus biologiques. (illustration de l'auteur)

La première consiste à diviser la surface à explorer, celle d'un sein pour une mammographie par exemple, en petits carrés de 1mm par 1mm. Un faisceau laser de petit diamètre (un faisceau « collimaté ») balaie cette surface, pendant qu'un détecteur placé de l'autre côté du sein effectue le même déplacement. En chacun des petits carrés, une mesure est réalisée. Une autre technique développée par Philips consiste à utiliser un illuminateur constitué de multiple fibres d'excitation et de recueil. Le balayage mécanique du faisceau est remplacé par l'arrangement de multiples fibres optiques, utilisées alternativement à la fois pour l'illumination et, en face opposée, pour le recueil des photons (figures 2a, 2b) [2].

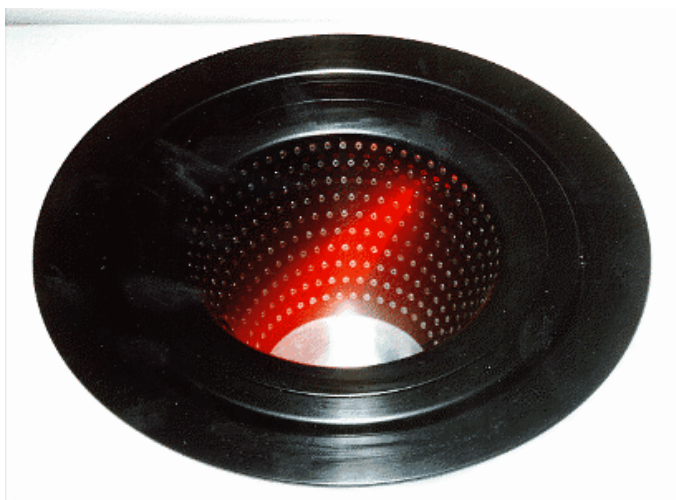


Figure 2a : Illuminateur pour mammographie optique développé par la Société Philips.



Figure 2b : Système de mammographie développé par la Société Philips.

L'avantage d'une telle méthode, par ailleurs coûteuse en temps de mesure, s'apprécie sur la diffusion : en effet, on conçoit que celle-ci soit proportionnelle au nombre de molécules que peuvent rencontrer les photons dans leur parcours, c'est-à-dire au volume de tissu illuminé. En illuminant à chaque fois un petit volume, on réduit d'autant l'effet de la diffusion. Il suffit ensuite, pour constituer une image globale, d'assembler les mesures individuelles à la fin du balayage. Si le contraste obtenu n'est

pas suffisant, il est encore possible de réaliser une mesure supplémentaire, à l'aide d'une source lumineuse d'une autre longueur d'onde. L'atténuation du faisceau étant variable en fonction de la longueur d'onde, on augmente ainsi les chances d'obtenir assez d'informations pour détecter la présence d'une tumeur et en tracer des contours précis (figure 3). C'est la solution retenue par les sociétés développant aujourd'hui de tels systèmes. Ainsi, Hamamatsu, qui a développé le premier appareil de mammographie optique sur ce principe, utilise deux longueurs d'onde (830nm et à 630 nm) [3]. Siemens a recours à 4 longueurs d'onde (690nm, 750nm, 788nm et 856nm).

Chez Mediphotonics Laboratory, on met en œuvre un principe totalement différent qui, pour limiter la diffusion, ne réduit pas la taille du faisceau [4]. Ici, l'idée consiste à jouer sur le « temps de vol » des photons illuminant une surface relativement large. En effet, les photons, pénétrant au même instant sur une face d'un organe, ne se propagent pas dans le tissu selon des trajectoires parallèles et identiques. Par conséquent, ils n'atteignent pas le détecteur sur la face opposée en même temps. Schématiquement, on peut distinguer trois types de photons. Les premiers, les photons dits « balistiques », se propagent en ligne droite et parviennent donc les premiers sur le détecteur. On sait qu'ils sont rares, mais on peut

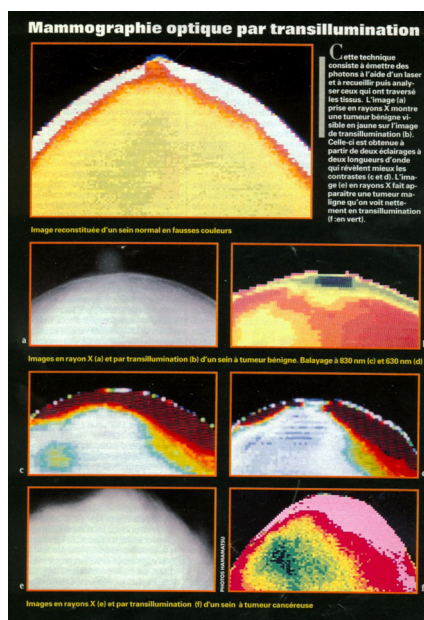


Figure 3 : Cette technique consiste à émettre des photons à l'aide d'un laser et à recueillir puis analyser ceux qui ont traversé les tissus. L'image (a) prise en rayons X montre une tumeur bénigne visible sur l'image de transillumination (b). Celle-ci est obtenue à partir de deux éclairages à deux longueurs d'onde qui révèlent mieux les contrastes (c et d). L'image (e) en rayons X fait apparaître une tumeur maligne qu'on voit nettement en transillumination (f). (document Société Hamamatsu Photonics).

calculer leur temps de vol théorique : à la vitesse de la lumière, 170 picosecondes sont nécessaires pour traverser en ligne directe 5 cm de tissu biologique. La deuxième « espèce » de photon est appelée « quasi-balistique ». Plus imagé, l'adjectif anglais qui leur est appliqué, *snake-like*, (serpentine en français) indique que leur trajectoire reproduit le dessin d'un serpent (figure 4). Ces photons subissent des modifications de trajectoires limitées et sont donc peu retardés : pour les mêmes 5 cm d'épaisseur, ils sont détectés entre 240 et 290ps. Si l'on sait fabriquer l'équivalent d'un obturateur ne s'ouvrant que pendant ce court instant, on imagine que l'image recueillie sera contrastée : une « ombre » se dessinera là où ne seront pas parvenus les photons absorbés par une tumeur.

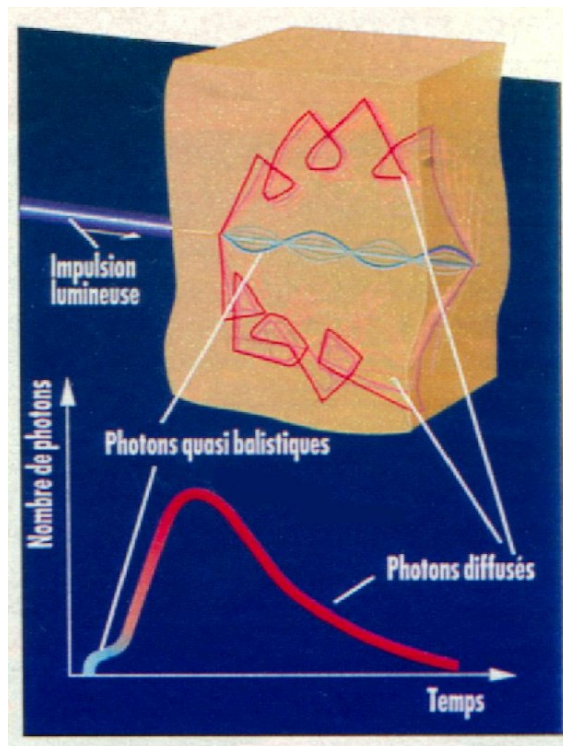


Figure 4 : Les photons ne se propagent pas tous de la même manière dans un tissu. Certains ont un trajet dit balistique (en ligne droite), d'autres, un trajet sinueux (les quasi-balistiques) et d'autres, les plus nombreux, diffusent dans le tissu et mettent plus de temps pour parvenir au détecteur. Pour recueillir les photons quasi balistiques qui seuls permettent d'obtenir une image nette, il suffit d'ouvrir l'obturateur pendant un très court instant. (document Mordon - Science & Vie [5]).

En revanche, si le détecteur est maintenu en réception après ces 290ps, le contraste disparaît au fur et à mesure qu'arrivent de toutes les directions la troisième « espèce » : les photons diffusés. Très rapidement, en cas d'une mauvaise synchronisation ou d'un léger retard dans l'ouverture de l'obturateur, l'image se dégrade. Or, maîtriser des impulsions

lumineuses de très courtes durées (de l'ordre de la femto- ou pico-seconde) requiert encore des prouesses technologiques. L'équipe de Mediphotonics a réussi à obtenir d'excellentes images à l'aide de son prototype fonctionnant à 527nm de longueur d'onde, avec des impulsions de 8ps. Le recueil des photons quasi balistiques s'effectue par l'intermédiaire d'une caméra CCD refroidie, équipée d'un obturateur dont le temps de réponse est de quelques picosecondes. L'avenir de ce type d'appareil dépend grandement des progrès de la technologie des très courtes impulsions : si elle devient facile d'accès, la rapidité d'obtention d'une mesure devrait lui procurer un avantage certain sur les techniques à balayage décrites plus haut.

Un troisième type d'imagerie optique par transillumination a été très récemment mis en œuvre par un laboratoire de l'université de l'Illinois. Pour exposer son principe, plus complexe que les précédents, nous passerons par une analogie. Elle concerne le sol terrestre : Angström a montré au milieu du XIX^e siècle que le sol n'enregistre pas les mêmes variations de température selon la profondeur. A moins d'un mètre, on n'observe que les variations journalières (cycle nocturne et diurne), c'est-à-dire des « hautes fréquences » par comparaison avec les « basses fréquences » des variations saisonnières : celles-ci sont enregistrées jusqu'à une dizaine de mètres de profondeur. Bien évidemment, tout ceci dépend de la composition des sols. Tirons-en cette simple leçon : dans un milieu, la propagation d'ondes de diffusion s'effectue différemment selon leur fréquence. L'idée des chercheurs de l'Illinois consiste à tirer avantage de cette propriété pour des ondes diffusant dans un tissu biologique. Ils utilisent un faisceau laser émettant à 690nm, dont ils font varier l'intensité avec une fréquence variable : ils « modulent » l'amplitude du faisceau (de plusieurs mégahertz à plusieurs gigahertz). Les informations recueillies sur le détecteur renseignent sur les perturbations de propagation rencontrées en fonction de la fréquence. Celles-ci dépendant de la nature des tissus, il est envisageable de détecter la présence d'un tissu « anormal », c'est-à-dire d'une tumeur [6].

Imagerie de fluorescence

Si la transillumination sort progressivement des laboratoires, l'utilisation de la fluorescence est relativement développée en biologie : cytométrie, microscopie, etc. Schématiquement, le principe consiste à éclairer (« exciter ») une molécule dans une longueur d'onde adaptée, celle de l'absorption maximale. Spontanément, la molécule revient ensuite de son état excité à son niveau d'énergie fondamental : cette « transition » se traduit par l'émission d'un ou plusieurs photons. En médecine, l'ophtalmologie fait déjà couramment appel à la fluorescence pour visualiser, dans le cas d'angiographies rétinienes, certaines structures vasculaires de l'œil. Depuis peu, d'autres disciplines médicales bénéficient

de cette technique, tout particulièrement la cancérologie pour l'aide au diagnostic précoce.

Pour faire de l'imagerie de fluorescence, il faut que des tissus différents (tumoraux et sains) émettent une fluorescence spécifique. Elle peut être naturelle : la plupart des tissus recèlent en effet des molécules fluorescentes (des fluorophores endogènes). Dans le principe, il est donc possible, après une excitation lumineuse unique, de discriminer les fréquences de la lumière émise par tel ou tel tissu. Mais on peut aussi forcer le phénomène, en administrant des substances artificielles : des fluorophores exogènes ayant une affinité spécifique pour le type de tissu que l'on cherche à identifier. On peut aussi avoir recours à des marqueurs fluorescents qui traduisent un état physico-chimique de leur environnement ou qui témoignent de certaines activités métaboliques : ces « marqueurs du métabolisme » sont bien connus en microscopie de fluorescence pour la mesure du pH, du calcium ou du potassium d'une cellule. Cette caractéristique est singulièrement utile quand on sait que le pH d'une tumeur est plus faible que celui du tissu sain environnant [7,8]. L'état d'oxygénation du tissu et l'activité électrique d'une cellule sont d'autres facteurs spécifiques accessibles par cette technique. Toutefois, pour l'instant, la plupart de ces marqueurs n'ont été évalués qu'*in vivo* chez l'animal. Il reste à les mettre en œuvre chez l'homme...

Différents paramètres permettent de caractériser un fluorophore : son spectre d'excitation (constitué généralement de plusieurs longueurs d'onde d'excitation), son spectre d'émission (avec plusieurs pics), et le temps mis par le fluorophore pour émettre après l'arrêt de l'excitation (temps de relaxation ou constante de temps).

La connaissance du spectre d'excitation du fluorophore permet de déterminer la (ou les) longueur(s) d'onde correspondant au meilleur rendement de fluorescence. La plupart des fluorophores biologiques présentent un pic d'excitation dans l'UV ou le bleu : malheureusement, à ces longueurs d'onde, la pénétration de la lumière dans les tissus est extrêmement limitée, elle ne dépasse pas quelques centaines de μm . On est donc amené à faire appel à des fluorophores (endogènes ou exogènes) dont le pic d'excitation est situé plus loin dans le visible. Plus les longueurs d'onde sont décalées vers le rouge, plus le phénomène de diffusion devient prépondérant et détériore la cohérence de la lumière. Pour chaque application, il s'agira de trouver un compromis entre ces diverses contraintes. L'excitation lumineuse choisie pour déclencher la réaction d'un fluorophore spécifique conduit toujours à une fluorescence « parasite » des autres fluorophores du tissu. Dans la plupart des cas, on tente d'éliminer cet effet parasite par une discrimination spectrale (figure 5). Encore faut-il avoir préalablement identifié, dans les spectres d'autofluorescence, les différences dues à un tissu sain ou à un tissu tumoral. Pour l'estomac, par

exemple, on sait déjà reconnaître des variations significatives entre le tissu sain, l'ulcère gastrique et le tissu cancéreux [9-11].

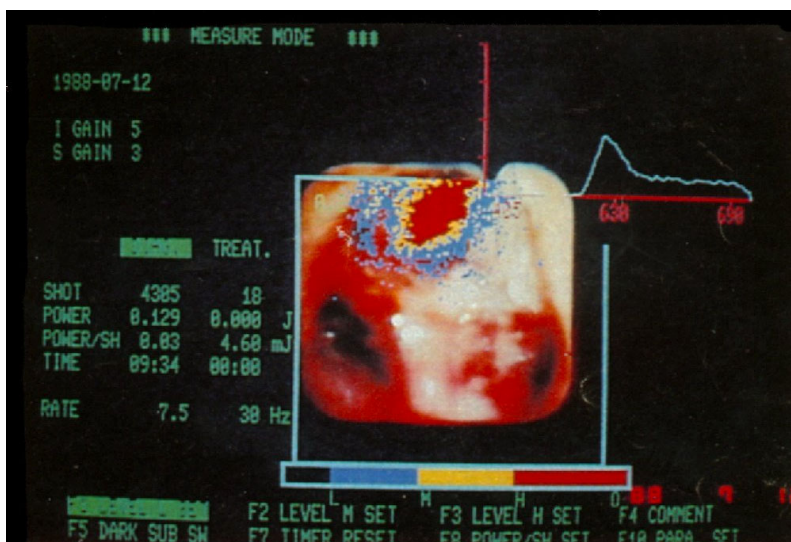


Figure 5 : L'image endoscopique classique de ce tissu bronchique ne montre que ce qui pourrait être visible à l'œil nu. La superposition d'une image de fluorescence révèle une tumeur (la tache en haut) qui n'avait pu être décelée par la lumière classique. Cette technique utilise un fluorophore artificiel, l'hématoporphyrine dont on connaît l'affinité pour la tumeur. (document H. Kato- Société Hamamatsu Photonics).

Des chercheurs de la British Columbia Cancer Agency de Vancouver ont mis en évidence un phénomène identique au niveau des bronches [12-14].

Pour effectuer une discrimination spectrale, une première technique consiste à faire des mesures d'intensité de la fluorescence émise, vue à travers différents filtres : on sélectionne ainsi les bandes spectrales caractéristiques et l'image résultante est formée par soustraction ou division de deux ou plusieurs bandes. Ce faisant, le contraste entre la zone saine et la zone tumorale est renforcé.

Certains marqueurs, telles les fluorescéines, ne présentent pas un seul mais plusieurs pics d'excitation ; en revanche, le spectre d'émission ne subit aucun décalage de longueurs d'onde. Ici, la technique consiste donc à exciter la molécule au moyen de plusieurs longueurs d'onde, et le recueil, *via* un filtre, se limite à une seule fréquence. C'est aujourd'hui la technique la plus utilisée en clinique. On a essentiellement recours à deux fluorophores exogènes qui sont autorisés pour une utilisation en clinique humaine. Il s'agit de l'Hématoporphyrine (ou Photofrin II) [15] [16] et surtout de l'ALA (Acide Amino Lévinique) qui est un précurseur de la protoporphyrine IX [17].

En oncologie clinique, ces techniques de fluorescence peuvent être utilement mises à profit pour le dépistage de lésions cancéreuses débutantes, indétectables par l'endoscopie classique. Prenons le cas des cancers bronchiques, cause majeure et croissante de la mortalité (73 pour 100 000 chez l'homme). Ils ne sont généralement découverts qu'à un stade évolué. Seulement 25% des malades diagnostiqués avec un cancer « non à petites cellules » peuvent bénéficier d'une ablation chirurgicale, et le taux de survie à 5 ans ne dépasse pas 20%. Ce sombre pronostic est susceptible d'être considérablement amélioré avec une technique de fluorescence.

Aujourd'hui plusieurs appareils ont atteint le stade de la commercialisation : ils sont basés sur la mesure de l'autofluorescence : le meilleur exemple est le LIFE (*Lung Imaging Fluorescence Endoscope*), mis au point par le British Columbia Cancer Research Center de Vancouver, Canada, et fabriqué par la société Xillix. Ce système s'adapte à un bronchoscope conventionnel, dans lequel le faisceau classique est remplacé par une lumière laser bleue (442nm). Le recueil de la fluorescence est réalisé au moyen d'une caméra CCD intensifiée, connectée au faisceau image de l'endoscope. La sensibilité de cette technique est environ deux fois meilleure que celle de la bronchoscopie classique (figures 6a, 6b, 6c). Sa parfaite innocuité et sa simplicité de mise en œuvre en font un outil efficace pour le dépistage régulier des populations à risque.

La société Karl Storz commercialise elle aussi aujourd'hui un appareil d'imagerie de fluorescence. Cet appareil utilisable par voie endoscopique permet la mesure de la fluorescence de la protoporphyrine IX (Figure 7). Cet appareil est principalement utilisé en Urologie, en Gynécologie et en ORL [18-23].

Outre la discrimination spectrale, on peut traiter l'information lumineuse par une discrimination temporelle. En effet, dès que l'excitation lumineuse cesse, la fluorescence s'éteint progressivement, selon une constante de temps variable en fonction des molécules. Or, la plupart des fluorophores exogènes ont un temps de relaxation plus long que les fluorophores endogènes (figure 8). Certaines porphyrines mettent 3 à 5 fois plus de temps pour finir d'émettre que les autres fluorophores (quelques nanosecondes, en moyenne). L'hématoporphyrine, actuellement très utilisée en médecine, fluoresce par exemple encore après 15ns. Il suffit donc d'attendre ce laps de temps avant d'ouvrir l'obturateur de la caméra : les fluorescences endogènes seront éteintes, et seule l'hématoporphyrine émettra le signal utile. Mais on retrouve ici un problème identique à celui de la transillumination par impulsions : la technologie à mettre en œuvre est complexe. Une équipe du Politecnico de Milan a récemment mis au point un appareil fonctionnant sur ce principe pour l'imagerie de tumeurs greffées

chez l'animal. Douze heures après avoir injecté de l'HpD, un dérivé de



Figure 6a : Appareil LIFE commercialisé par la Société XILLIX.

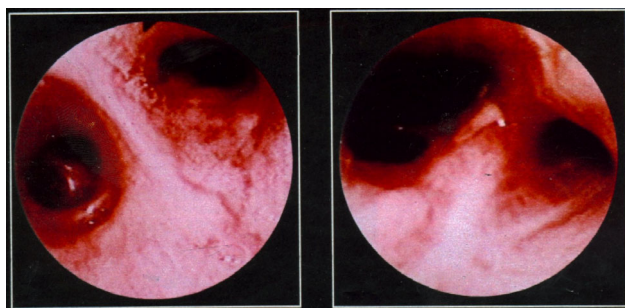


Figure 6b : Les images ci-dessus sont obtenues par une bronchoscopie classique. La lumière blanche conventionnellement utilisée ne révèle aucune différence quant à la nature de ces tissus bronchiques. (documentation Xillix)

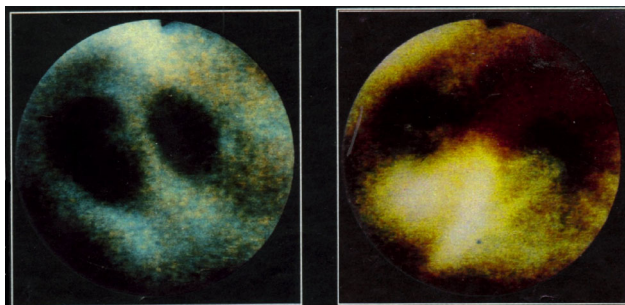


Figure 6c : Dans les images ci-dessus, la lumière blanche a été remplacée par la lumière bleue (442nm) du laser. La technique de fluorescence mise au point par LIFE permet de discriminer le tissu sain du tissu cancéreux : l'image de gauche, qui est saine, est homogène. Celle de droite montre une tâche sombre à l'emplacement de la tumeur. (documentation Xillix)

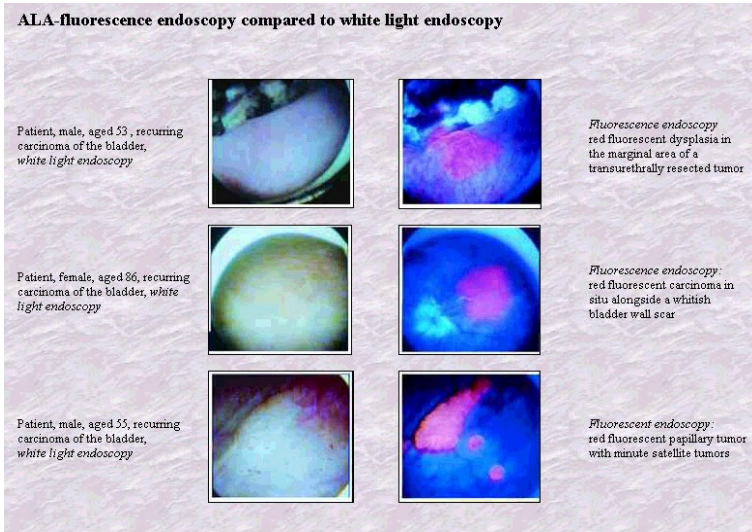


Figure 7 : Résultats obtenus avec l'Appareil de la Société Karl Storz.

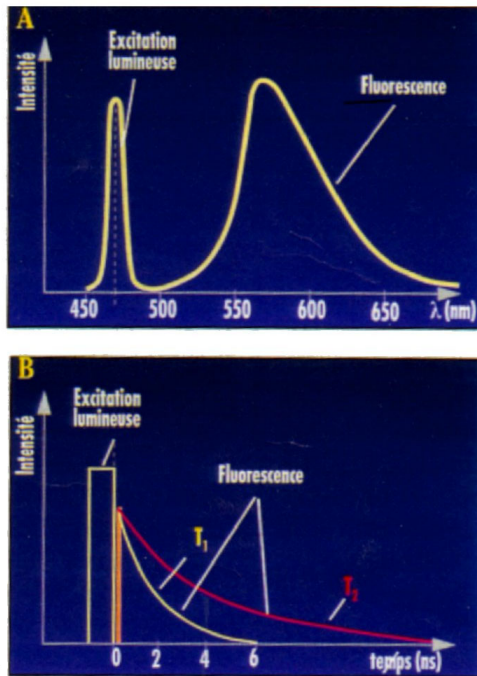


Figure 8 : Deux manières de traiter l'information lumineuse : l'excitation lumineuse d'un tissu à une longueur d'onde donnée (ici 470nm) déclenche la fluorescence de plusieurs molécules qui émettent à différentes longueurs d'onde. Connaissant le spectre spécifique du fluorophore recherché, il est possible de l'identifier en pratiquant une discrimination spectrale (A). On peut aussi pratiquer une discrimination temporelle (B). Les fluorophores exogènes (artificiels) ont un temps d'émission plus long (t_2). On peut ainsi attendre pour détecter le signal « utile » que tous les autres signaux se soient éteints (après 6ns). (document Mordon - Science et Vie [5])

l'hématoporphyrine, on obtient une image parce que le tissu sain a éliminé le produit tandis que le tissu tumoral l'a retenu. Le recueil de la fluorescence a lieu 15ns après l'émission, par un laser à azote, d'une impulsion de 1ns ayant une puissance moyenne de 10mW [24].

La tomographie par cohérence optique (OCT)

Enfin, il n'est pas possible d'évoquer les différentes techniques d'imagerie optique sans parler de celle qui est aujourd'hui la plus aboutie : la tomographie par cohérence optique. Cette technique est analogue à l'imagerie ultrasonore qui est basée sur l'utilisation d'ondes ultrasonores. La tomographie par cohérence optique est basée elle sur l'utilisation d'ondes lumineuses. Très schématiquement, cette technique reprend le principe de l'interféromètre de Michelson afin de créer des franges d'interférence. La lumière produite par une source laser infrarouge (soit une diode laser à 830nm ou 1270nm, soit un laser titane-saphir) est divisée en deux faisceaux, un faisceau référence et un faisceau envoyé sur le tissu biologique (figure 9).

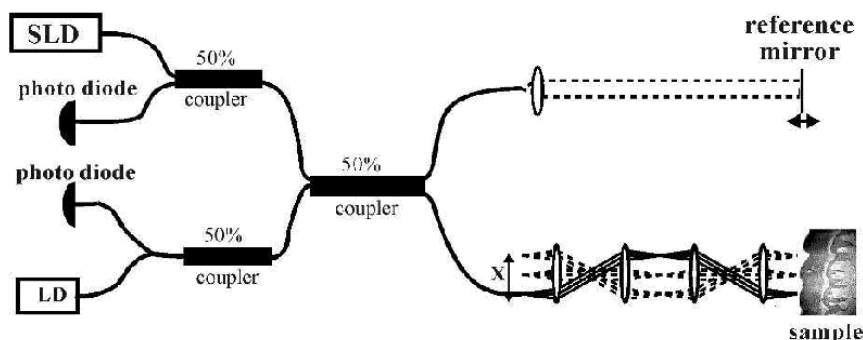


Figure 9 : Schéma de principe d'un tomographe à cohérence optique. D'après "In Vivo Tissue Measurements with Optical low Coherence Tomography" par E. Lankenau, J. Welzel, R. Birngruber, R. Engelhardt, Medical Laser Center Lübeck, Allemagne.

Ce faisceau illumine le tissu, directement ou *via* une fibre optique. La lumière rétro-diffusée par tissu est détectée. Le signal provenant du faisceau référence et le signal provenant du tissu produisent un signal d'interférence. Grâce au déplacement latéral à vitesse constante de ce faisceau, la mesure est reproduite à différents points de l'échantillon sur une distance de plusieurs millimètres. La mesure en profondeur est obtenue grâce à la modification du trajet optique du bras référence. Le traitement informatique de ces signaux permet de construire des images en noir et blanc ou bien en fausses couleurs. La résolution est telle qu'il est possible d'obtenir de véritables biopsies tissulaires en quasi-temps réel. Aujourd'hui plusieurs systèmes sont commercialisés avec des résolutions latérale et axiale pouvant atteindre de 4 à 20µm jusqu'à des profondeurs de

l'ordre de 2mm. L'utilisation d'une fibre optique permet d'utiliser ce système par voie endoscopique. Un tomographe à cohérence optique à diode laser (puissance 0,6mW, fréquence de balayage 150Hz) permet d'obtenir une image 200x200 pixels, en moins d'une seconde avec une résolution latérale de $4\mu\text{m}$ (figure 10).

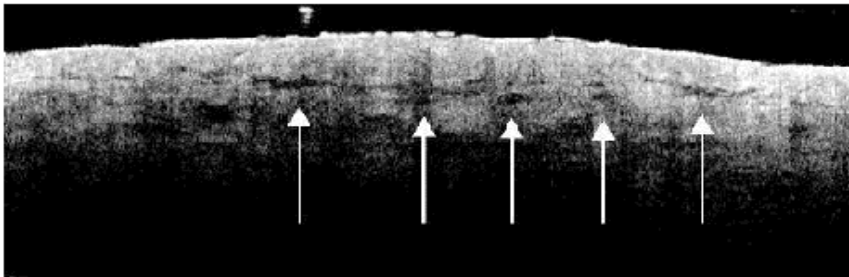


Figure 10a

Mesure réalisée *in vivo* par un OCT d'un nevus baso-cellulaire de l'avant bras. (dimensions de l'image 4mm*1,5mm.). D'après "In Vivo Tissue Measurements with Optical low Coherence Tomography" par E. Lankenau, J. Welzel, R. Birngruber, R. Engelhardt, Medical Laser Center Lübeck, Allemagne.

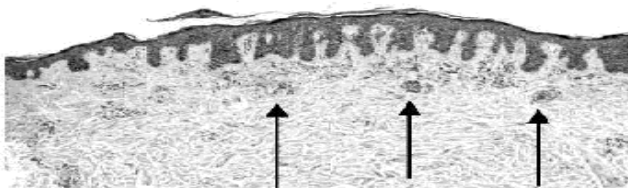


Figure 10b

Histologie conventionnelle (H&E) de la même zone obtenue après prélèvement. D'après "In Vivo Tissue Measurements with Optical low Coherence Tomography" par E. Lankenau, J. Welzel, R. Birngruber, R. Engelhardt, Medical Laser Center Lübeck, Allemagne.

Le recours à un laser femtoseconde permet d'augmenter encore les résolutions (de l'ordre de $1\mu\text{m}$) et d'imager des structures sub-cellulaires tels que les noyaux des cellules comme l'illustre la figure 11.

Aujourd'hui les applications cliniques de cette technique sont nombreuses [25-31]. La principale est l'ophtalmologie pour laquelle une instrumentation a été développée par la société Humphrey (figure 12).

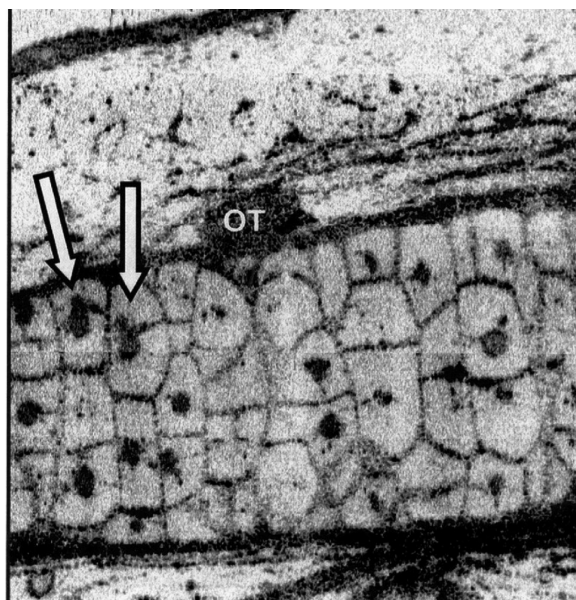


Figure 11

Image d'un têtard (*xenopus laevis*) obtenue par l'OCT développée par le MIT. Les flèches montrent sur cette image deux cellules en mitose. (document biophotonics International, octobre 1999).

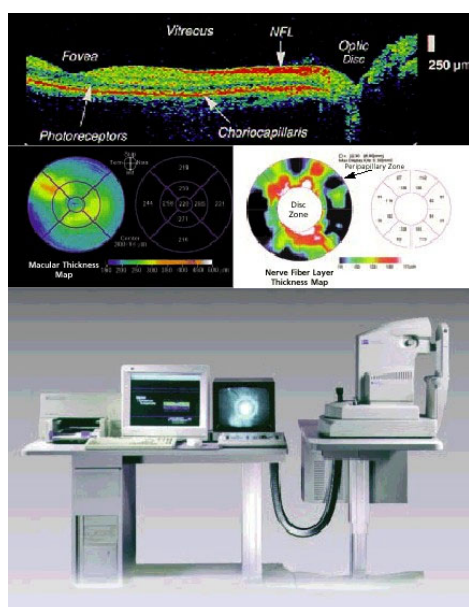


Figure 12

OCT commercialisé par la Société Humphrey pour l'ophtalmologie.

Conclusion

En conclusion, les techniques photoniques offrent aujourd'hui une approche performante en imagerie médicale. En ce qui concerne l'imagerie par transillumination, des appareils médicaux existent, principalement pour la mammographie optique. Ces appareils doivent maintenant démontrer que leurs performances, en termes de résolution et de sensibilité, sont au moins égales à celles des scanners ou tomographes à rayons X. En ce qui concerne l'imagerie de fluorescence, il faut se rappeler que cette technique est utilisée quotidiennement par les ophtalmologistes. D'autres disciplines médicales devraient bénéficier à court terme du complément essentiel que représente l'information « fluorescence ». Plusieurs appareils médicaux récemment adaptés à l'endoscopie sont utilisés pour la détection précoce de tumeurs. Enfin, la tomographie par cohérence optique (OCT) offre des performances uniques en terme de résolution spatiale. L'ophtalmologie en bénéficie déjà. Des appareils à fibre optique, particulièrement adaptés à l'imagerie par voie endoscopique, sont maintenant commercialisés.

Bibliographie

1. Quaresima, V., S.J. Matcher, and M. Ferrari, *Identification and quantification of intrinsic optical contrast for near-infrared mammography*. Photochem Photobiol, 1998. **67**(1): p. 4-14.
2. Hoogenraad, J.H., et al., *First Results from the Philips Optical Mammoscope*, BIOS-97, Editor. 1997, SPIE: Bellingham, USA.
3. Fantini, S., et al., *Frequency-domain optical mammography: edge effect corrections*. Med Phys, 1996. **23**(1): p. 149-57.
4. Alfano, R.R., et al., *Time-resolved and nonlinear optical imaging for medical applications*. Ann N Y Acad Sci, 1998. **838**: p. 14-28.
5. Mordon, S., *Imagerie Médicale: les voies de la lumière*. Science et Vie, 1994. **186**: p. 104-113.
6. Franceschini, M.A., et al., *Frequency-domain techniques enhance optical mammography: initial clinical results*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1997. **94**(12): p. 6468-73.
7. Mordon, S., J.M. Devoisselle, and V. Maunoury, *In vivo pH measurement and imaging of tumor tissue using a pH-sensitive fluorescent probe (5,6-carboxyfluorescein): instrumental and experimental studies*. Photochem Photobiol, 1994. **60**(3): p. 274-9.
8. Helmlinger, G., et al., *Interstitial pH and pO₂ gradients in solid tumors in vivo: high-resolution measurements reveal a lack of correlation*. Nat Med, 1997. **3**(2): p. 177-82.
9. Gillenwater, A., R. Jacob, and R. Richards-Kortum, *Fluorescence spectroscopy: a technique with potential to improve the early detection of aerodigestive tract neoplasia*. Head Neck, 1998. **20**(6): p. 556-62.
10. Brookner, C.K., et al., *Cervical fluorescence of normal women*. Lasers Surg Med, 1999. **24**(1): p. 29-37.

11. Richards-Kortum, R. and E. Sevick-Muraca, *Quantitative optical spectroscopy for tissue diagnosis*. Annu Rev Phys Chem, 1996. **47**: p. 555-606.
12. Lam, S., C. MacAulay, and B. Palcic, *Detection and localization of early lung cancer by imaging techniques*. Chest, 1993. **103**(1 Suppl): p. 12S-14S.
13. Harries, M.L., et al., *Diagnostic imaging of the larynx: autofluorescence of laryngeal tumours using the helium-cadmium laser*. J Laryngol Otol, 1995. **109**(2): p. 108-10.
14. Lam, S., et al., *Detection of dysplasia and carcinoma in situ with a lung imaging fluorescence endoscope device*. J Thorac Cardiovasc Surg, 1993. **105**(6): p. 1035-40.
15. Svanberg, K., et al., *Clinical multi-colour fluorescence imaging of malignant tumours-- initial experience*. Acta Radiol, 1998. **39**(1): p. 2-9.
16. Lam, S., et al., *Detection of early lung cancer using low dose Photofrin II*. Chest, 1990. **97**(2): p. 333-7.
17. Webber, J., D. Kessel, and D. Fromm, *Plasma levels of protoporphyrin IX in humans after oral administration of 5-aminolevulinic acid*. J Photochem Photobiol B, 1997. **37**(1-2): p. 151-3.
18. Leunig, A., et al., *Detection of squamous cell carcinoma of the oral cavity by imaging 5- aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX fluorescence*. Laryngoscope, 2000. **110**(1): p. 78-83.
19. Hillemanns, P., et al., *Photodetection of cervical intraepithelial neoplasia using 5- aminolevulinic acid-induced porphyrin fluorescence*. Cancer, 2000. **88**(10): p. 2275-82.
20. Riedl, C.R., E. Plas, and H. Pfluger, *Fluorescence detection of bladder tumors with 5-amino-levulinic acid*. J Endourol, 1999. **13**(10): p. 755-9.
21. Lange, N., et al., *Photodetection of early human bladder cancer based on the fluorescence of 5-aminolaevulinic acid hexylester-induced protoporphyrin IX: a pilot study*. Br J Cancer, 1999. **80**(1-2): p. 185-93.
22. Wang, I., et al., *Fluorescence diagnostics and kinetic studies in the head and neck region utilizing low-dose delta-aminolevulinic acid sensitization*. Cancer Lett, 1999. **135**(1): p. 11-9.
23. Eker, C., et al., *Clinical spectral characterisation of colonic mucosal lesions using autofluorescence and delta aminolevulinic acid sensitisation*. Gut, 1999. **44**(4): p. 511-8.
24. Cubeddu, R., et al., *Fluorescence lifetime imaging of experimental tumors in hematoporphyrin derivative-sensitized mice*. Photochem Photobiol, 1997. **66**(2): p. 229-36.
25. Hee, M.R., et al., *Optical coherence tomography of the human retina*. Arch Ophthalmol, 1995. **113**(3): p. 325-32.
26. Fujimoto, J.G., et al., *Optical biopsy and imaging using optical coherence tomography*. Nat Med, 1995. **1**(9): p. 970-2.
27. Tearney, G.J., et al., *Optical biopsy in human urologic tissue using optical coherence tomography*. J Urol, 1997. **157**(5): p. 1915-9.
28. Pitris, C., et al., *High-resolution imaging of gynecologic neoplasms using optical coherence tomography*. Obstet Gynecol, 1999. **93**(1): p. 135-9.
29. Fujimoto, J.G., et al., *High resolution in vivo intra-arterial imaging with optical coherence tomography*. Heart, 1999. **82**(2): p. 128-33.

30. Jesser, C.A., et al., *High resolution imaging of transitional cell carcinoma with optical coherence tomography: feasibility for the evaluation of bladder pathology*. Br J Radiol, 1999. **72**(864): p. 1170-6.
31. Boppart, S.A., M.E. Brezinski, and J.G. Fujimoto, *Optical coherence tomography imaging in developmental biology*. Methods Mol Biol, 2000. **135**: p. 217-33.

Lasers, outils diagnostiques : exemple d'application à la détection des caries dentaires

Sigrid AVRILLIER
Laboratoire de physique des lasers
Université Paris XIII, Villetaneuse
mél : avrillie@galilee.univ-paris13.fr

L'usage du fluor dans les pays développés a considérablement transformé l'évolution des caries dentaires. On observe en effet un déclin important du nombre de caries, une évolution plus lente des lésions ainsi qu'une possibilité de stabilisation et même de régression des caries précoces. L'existence de nouveaux traitements conduisant à une reminéralisation lente de la dent soulève la nécessité de mesures précises permettant de déterminer si une lésion doit être restaurée ou si une thérapie plus conservatrice est appropriée. Les méthodes conventionnelles de détection des caries (exploration visuelle, exploration tactile avec des instruments durs, radiographie) ne peuvent pas rendre compte de la dynamique du processus de déminéralisation ou de reminéralisation des caries. La détection précoce reste également très difficile.

Une méthode diagnostique idéale devrait permettre une détection suffisamment précoce pour que des actions de prévention spécifiques puissent être appliquées à temps. Ceci implique par ailleurs qu'elle serait capable de mesurer les degrés les plus subtils entre la déminéralisation et la cavitation. Nous verrons dans cet exposé que l'utilisation des lasers permet d'atteindre ces objectifs. Les méthodes optiques correspondantes présentent en plus l'avantage de nécessiter de très basses intensités lumineuses (10 à 20 mW/cm^2) et d'être inoffensives (contrairement aux rayons X). À terme les lasers à semi-conducteur, petits, légers et d'un prix très abordable seront intégrés dans les appareils cliniques.

Nous présenterons deux types de diagnostic laser des caries : La fluorescence induite par laser et la tomographie optique cohérente ou OCT. Concernant la fluorescence nous dégagerons deux méthodes principales. La première utilisant une excitation lumineuse dans le bleu permet d'effectuer des images de la surface lisse des dents. Les images ainsi obtenues sont traitées par l'informatique et fournissent des mesures quantitatives précises de la surface des lésions et de leur gravité. Ces données peuvent ensuite être utilisées pour un suivi à long terme de l'évolution de lésions précoces (tâches blanches par exemple).

La seconde méthode, fondée sur la fluorescence, utilise quant à elle une excitation dans le rouge qui pénètre plus profondément dans la dent. Du fait de la forte diffusion de la lumière dans l'émail et la dentine, il n'est

pas possible dans ce cas d'obtenir une image de fluorescence. Cependant la mesure des variations de l'intensité totale de la fluorescence en fonction de la pathologie du tissu irradié permet un diagnostic point par point beaucoup plus précoce que les méthodes traditionnelles évoquées précédemment.

Enfin nous terminerons notre exposé en relatant les performances d'un système de diagnostic optique expérimental fondé sur un principe différent de celui de la fluorescence. Il s'agit d'une méthode interférométrique utilisant une source de cohérence relativement faible : le signal utile est obtenu sur le détecteur d'un interféromètre de Michelson dont l'un des miroirs est remplacé par la dent à examiner. Un balayage du miroir de référence suivi d'un balayage latéral de la dent permet d'obtenir une véritable coupe histologique de cette dernière. Il est ainsi possible de détecter, aussi bien dans l'émail que dans la dentine, des lésions de l'ordre de 200 microns de diamètre et cela même derrière une restauration à base de résines. Ce procédé peut aussi être utilisé par le dentiste pour suivre précisément l'efficacité du fraisage de la dent et la qualité de la restauration.

Ces techniques de diagnostic par laser, dont certaines sont déjà commercialisées, devraient, à brève échéance, compléter ou même remplacer les méthodes conventionnelles utilisées dans la majorité des cabinets dentaires.

Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)

Chrit MOONEN

Résonance Magnétique des Systèmes Biologiques,

Université Victor Segalen, Bordeaux

mél : Chrit.Moonen@rmsb.u-bordeaux2.fr

Malgré sa jeunesse (l'invention de l'IRM a été faite en 1973) et son coût (une IRM haut de gamme vaut plus de 1 million €), l'IRM a déjà acquis un rôle très important dans l'imagerie médicale. Par exemple, l'IRM est devenue la méthode d'imagerie de choix pour toutes les maladies neurologiques. La croissance du nombre d'appareils IRM reste très élevée. Plusieurs atouts sont à la base de ce succès :

- 1) nature non-invasive de la méthode,
- 2) contraste excellent pour les tissus mous grâce aux temps de relaxation T1 et T2 et la densité des spins,
- 3) versatilité dans la modification du signal avec des agents de contraste,
- 4) bonne résolution spatiale (de l'ordre de 1 mm) et temporelle (de l'ordre de 50 ms pour une seule coupe à quelques minutes pour les images 3D).

Bases physiques de l'IRM

Les spins nucléaires *précessent* autour de l'axe principal du champ magnétique extérieur B_0 avec la fréquence de Larmor ω ($\omega = \gamma B_0$). La Résonance Magnétique Nucléaire est produite quand la position des spins est perturbée par une irradiation avec la fréquence de Larmor. Le codage de l'espace est basé sur l'utilisation des gradients du champ magnétique dans trois directions orthogonales. Pour l'imagerie médicale on utilise le plus souvent les signaux des spins des atomes d'hydrogène dans l'eau tissulaire.

De l'anatomie à la physiologie et à la thérapie : développements récents et rôle de la physique

La poursuite de l'évolution de l'IRM est illustrée par les applications médicales récentes (ou potentielles) qui nécessitent souvent une approche interdisciplinaire et une adaptation spécifique des appareils IRM, des méthodes d'acquisition des données et du traitement des données. Dans le domaine de l'imagerie physiologique, on peut souligner quelques exemples de ces nouveaux développements :

- Imagerie de ventilation pour la fonction pulmonaire

- Imagerie de perfusion et diffusion pour le diagnostic des accidents vasculaires
- Imagerie cardiaque (fonction du muscle cardiaque, imagerie des artères coronaires)
- Imagerie de l'activation cérébrale

Concernant les aspects thérapeutiques, deux thématiques majeures sont actuellement en plein essor : 1) Thérapie Guidée par Imagerie et 2) Imagerie Moléculaire. Ils répondent à des questions de la société : i) comment améliorer la performance des méthodes thérapeutiques tout en limitant les coûts et ii) comment traduire les progrès dans la compréhension du génome par des améliorations thérapeutiques. Le rôle central de la physique dans quelques projets multidisciplinaires sera illustré :

- Guidage des cathéters par IRM
- Les thermothérapies guidées par IRM
 - IRM de température
 - Les outils de chauffage contrôlés par IRM de température
 - Thermo-ablation des tumeurs
 - Thérapie génique : contrôle de l'expression transgénique
 - Dépôt local des médicaments.

L'IRM s'est développée du diagnostic classique (l'anatomie) vers le diagnostic avancé (les processus dynamiques) et vers la thérapie guidée par l'imagerie. Les progrès les plus importants se trouvent dans les projets interdisciplinaires avec un rôle majeur de la physique, illustrés par les exemples ci-dessus. La multidisciplinarité nécessite une interaction forte avec les médecins et le développement d'un langage commun.

Les Ultrasons : Applications médicales

Léandre POURCELOT

Université F. Rabelais et CHRU Bretonneau, Tours

mél : pourcelot@med.univ-tours.fr

I - Introduction

Les techniques ultrasonores appliquées à la médecine ont été développées dans les années 1950 et ont commencé à être utilisées en routine vers le début des années 1970. Ces techniques dérivent de celles qui ont été mises au point pour le radar, le sonar sous-marin et le contrôle non destructif des matériaux. Cependant en raison de leur application particulière en milieu médical, certaines d'entre elles ont été considérablement modifiées pour rendre leur utilisation simple et efficace.

Les techniques ultrasonores ont de nombreux avantages par rapport aux autres méthodes d'exploration du corps humain : elles sont non ionisantes, non dangereuses, et faciles à mettre en œuvre. D'autre part, elles autorisent une visualisation en temps réel des organes comme le cœur et le sang circulant. Leur prix de revient est très compétitif, de sorte que le rythme d'examens par ultrasons dans un Centre Hospitalo-Universitaire français de taille moyenne devrait osciller entre 200 et 300 par jour.

II - Généralités

Les fréquences ultrasonores les plus utilisées en médecine sont situées dans la gamme allant de 3 à 15 MHz, ce qui correspond à des longueurs d'onde d'une fraction de millimètre, la vitesse des ultrasons dans les tissus mous étant de 1540 m s^{-1} à 5% près.

Les ultrasons se propagent assez bien dans les tissus du corps humain, le coefficient d'atténuation, sensiblement proportionnel à la fréquence ultrasonore utilisée, variant de $0,5$ à $3,5 \text{ dB cm}^{-1} \text{ MHz}^{-1}$.

L'impédance acoustique des tissus est le produit de leur masse spécifique par la vitesse de propagation des ultrasons. Cette impédance est voisine de celle de l'eau avec des valeurs comprises en $1,3$ et $1,7 \text{ Mra}$ ($10^6 \text{ kg m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).

La différence d'impédance acoustique entre deux milieux est à l'origine des échos renvoyés par les tissus traversés. Des échos dits spéculaires (un peu comme la réflexion sur un miroir pour la lumière) sont obtenus sur les capsules d'organes, les fibres tendineuses ou musculaires

et les parois vasculaires, mais ils n'ont pas un intérêt majeur en diagnostic. En effet, ce sont les échos de diffusion (*speckle* en anglais) qui contribuent à créer l'image de la « texture ultrasonore » d'un organe (le verre dépoli pour la lumière), et permettent donc de différencier un tissu sain d'un tissu malade.

III - Les capteurs

Les capteurs d'imagerie et de détection Doppler à applications médicales sont essentiellement réalisés à base de céramiques ferro-électriques de type PZT (zirconate-titanate de plomb). Ces céramiques à fort coefficient de couplage électro-acoustique k_t ont des impédances acoustiques 15 à 20 fois supérieures à celles des tissus biologiques, ce qui pose des problèmes d'adaptation d'impédance entre ces deux milieux. Les polymères piézo-électriques ont une impédance acoustique plus faible que les céramiques, mais, malgré de nombreux travaux de mise au point, ils présentent des coefficients de couplage électro-acoustiques encore insuffisants. Pour maintenir une bonne sensibilité et une large bande passante, tout en abaissant l'impédance acoustique du matériau piézo-électrique, il a donc été nécessaire d'évoluer vers des matériaux composites. On associe une phase résine inerte et légère à la phase piézo-électrique. Le matériau obtenu a plusieurs caractéristiques intéressantes :

- impédance 2 à 3 fois plus faible que celle de la céramique initiale,
- coefficient de couplage k_t meilleur que celui de la céramique,
- souplesse du matériau (éventuellement thermo-moulable), ce qui permet de réaliser aisément des coupelles ou des cylindres,
- couplage latéral faible, intéressant pour la réalisation d'une focalisation électronique de qualité à partir de barrettes de transducteurs.

Pour répondre aux nombreuses applications diagnostiques des ultrasons, il a été nécessaire de développer une grande variété de capteurs, les appareils d'échographie-Doppler récents possédant de 20 à 30 sondes différentes en taille, fréquence ultrasonore et mode de balayage.

IV - L'imagerie échographique

L'imagerie échographique des structures peut être obtenue grâce à plusieurs types de balayage :

- le balayage sectoriel mécanique : le capteur est déplacé grâce à un moteur et produit 10 à 30 images par seconde. Le mouvement mécanique est obtenu essentiellement de deux manières : oscillation d'un transducteur autour d'un point fixe ou déplacement linéaire de va-et-vient si l'amplitude du déplacement est faible. Le balayage mécanique est actuellement réservé aux sondes de fréquences ultrasonores

supérieures à 15 MHz, pour lesquelles le balayage électronique n'est pas encore utilisable.

- Le balayage sectoriel électronique par déphasage (*phased array*) : une petite barrette de transducteur (par exemple 64 éléments de 0,25 mm de côté) est utilisée pour générer et recevoir les ultrasons. Les impulsions d'émission transmises à chaque transducteur élémentaire sont déphasées entre elles linéairement, de manière à exciter avec un léger décalage de temps les éléments adjacents de la barrette. Le front d'onde constitué par la somme des fronts élémentaires émis se propage alors dans une direction qui fait un angle θ (qui dépend de la valeurs des retards) avec la normale au capteur. Le même déphasage est appliqué ensuite sur les signaux reçus par les différents transducteurs. La variation des retards à chaque nouvelle séquence d'émission-réception permet de réaliser un balayage sectoriel dont l'ouverture maximale est de 90° environ. L'image obtenue a la forme d'un secteur dont le sommet correspond au point de contact de la sonde avec la peau du patient. Dans les appareils récents, on superpose des retards supplémentaires aux retards de déflexion, afin de réaliser une focalisation électronique.
- Le balayage électronique linéaire sur sonde plane : cette technique repose sur l'utilisation d'un barreau détecteur de 3 à 12 cm de long, constitué d'un nombre important de capteurs de petite dimension (de l'ordre d'une fraction de millimètre), placés côte à côte. La surface d'émission-réception est obtenue en associant un certain nombre d'éléments de ce barreau (24 à 128 par exemple), excités simultanément. Après chaque séance d'émission-réception correspondant à l'exploration d'une ligne, la surface de travail est translatée d'un élément, de sorte que l'espace entre chaque ligne d'exploration est égale à la largeur de chaque transducteur élémentaire. La commutation rapide d'une ligne à l'autre permet, comme en balayage sectoriel électronique, d'obtenir des cadences d'images de 30 à 100 par seconde, sans aucune pièce en mouvement, et de générer des fréquences ultrasonores jusqu'à 15 MHz environ. Ces capteurs fournissent des images rectangulaires avec des lignes d'acquisition parallèles, très appréciées en exploration abdominale et en obstétrique.
- Le balayage électronique linéaire sur sonde convexe : en utilisant un balayage linéaire le long d'un barreau convexe de transducteurs, on peut orienter les faisceaux d'ultrasons émis, dans un secteur de l'ordre de 60° ; cette technique récente associe les avantages du balayage électronique linéaire (simplicité de l'électronique et fréquence ultrasonore élevée) et du balayage électronique sectoriel (surface de contact réduite, utilisation à travers des fenêtres acoustiques de faible dimension). Cette technique s'impose progressivement dans la majorité des applications de l'échographie transcutanée.

L'imagerie échographique endocavitaire utilise des capteurs miniatures dont les diamètres vont de 10 à 20 mm pour les sondes endoesophagiennes, endorectales ou endovaginales, à moins de 1 mm pour les sondes endovasculaires. Ces dernières utilisent un balayage mécanique, alors que les précédentes sont pilotées électroniquement. Ces capteurs ultrasonores sont utilisés de plus en plus en salle d'opération pour guider des interventions classiques et prochainement pour être intégrés dans des systèmes de robotique chirurgicale.

L'imagerie tridimensionnelle par ultrasons n'a pas encore atteint le stade de l'utilisation de routine pour plusieurs raisons liées à la fois au prix des capteurs et de l'informatique associée, aux problèmes liés à la représentation d'un corps opaque en 3 dimensions et à la compétition avec la vue en 3D « naturelle » des échographistes entraînés. Cependant plusieurs appareils commerciaux possèdent déjà cette possibilité. La mise au point de capteurs ultra rapides (rétine à ultrasons), et intelligents, semble être une clef dans l'évolution de l'échographie 3D.

V - Focalisation

La focalisation électronique dynamique (ou en poursuite d'échos) est utilisée de manière quasi-systématique sur tous les capteurs d'imagerie, qu'ils soient à balayage électronique ou mécanique. La position de la zone focale d'émission n'est déplaçable que d'un tir à l'autre, alors que la zone focale de réception peut être commutée pour poursuivre le front d'onde au cours de sa propagation. Les réseaux annulaires permettent d'adapter cette focalisation électronique sur les capteurs à balayage mécanique.

VI - Les techniques à effet Doppler

La variation de fréquence ΔF , par effet Doppler entre les ultrasons incidents (fréquence F) et les ultrasons réfléchis (fréquence F') par les globules rouges du sang en mouvement, permet de détecter la vitesse v de ces derniers en appliquant la formule : $\Delta F = F - F' = 2F v \cos\theta / c$, dans laquelle c est la vitesse des ultrasons et $\cos\theta$ l'angle moyen entre l'axe d'émission-réception d'ultrasons et l'axe du vecteur vitesse.

Les vitesses normales d'écoulement du sang étant comprises entre 0 et 150 cm s⁻¹, et la fréquence des ultrasons F variant de 2 à 10 MHz selon le domaine d'application, la variation de fréquence ΔF est comprise entre 0 et 10 kHz, c'est-à-dire qu'elle se situe dans la gamme des fréquences audibles.

Lors de la réflexion des ultrasons sur un ensemble de particules en mouvement, le signal dû à l'effet Doppler est composé de signaux de

différentes fréquences ΔF_i , correspondant aux différentes vitesses v_i des réflecteurs présents dans le volume de mesure. Le signal Doppler ΔF présente donc un certain spectre de fréquences qui pourra être détecté par un analyseur de spectre. Chaque signal Doppler correspondant à une vitesse déterminée est alors détecté avec une amplitude qui dépend du nombre de particules ayant cette vitesse, à un instant donné, dans l'artère. On démontre aisément qu'en cas d'écoulement parabolique chaque fréquence (ou vitesse) est détectée avec le même niveau énergétique, car il y a le même nombre de particules dans chaque tranche de vitesse. Par contre, si l'écoulement présente un profil non parabolique, cette relation n'est plus vraie : en particulier, en cas d'écoulement turbulent, l'instabilité du spectre est caractéristique et permet de graduer le degré de turbulence, et indirectement de connaître le pourcentage de réduction du calibre du vaisseau.

Le traitement électronique du signal Doppler se fait essentiellement de deux manières différentes :

- On peut rechercher la fréquence moyenne du spectre, ce qui fournit directement une information sur la moyenne des vitesses le long de la section, c'est-à-dire une donnée proportionnelle au débit instantané.
- On enregistre l'évolution du spectre au cours du temps, afin de conserver toutes les informations contenues dans le signal d'origine et caractériser ainsi les écoulements non paraboliques.

VII - Les appareils à effet Doppler

Il existe deux types d'appareil Doppler disponibles :

- Les appareils à émission continue, dans lesquels le capteur est constitué d'une céramique émettrice, qui transmet en permanence un signal ultrasonore dans le milieu, et d'une céramique réceptrice qui détecte les signaux réfléchis. Ces appareils ont été largement utilisés pour l'exploration de vaisseaux superficiels, faciles à identifier (vaisseaux du cou et des membres en particulier). Ils sont reliés soit à un enregistreur graphique pour l'enregistrement des courbes de vitesse, soit à un système d'analyse spectrale, suivant le mode de traitement du signal Doppler utilisé. Les appareils à émission continue sont peu onéreux et faciles à mettre en œuvre ; ils sont cependant limités lorsque les vaisseaux à explorer sont profonds ou lorsque plusieurs vaisseaux peuvent se superposer dans l'axe du capteur.
- Les appareils à émission pulsée émettent une brève impulsion, comme en échographie, puis le transducteur devient récepteur et détecte le signal réfléchi en fonction de la profondeur. Une porte électronique permet de sélectionner le signal correspondant à la région à explorer et

évite la superposition d'informations provenant de cibles placées en avant ou en arrière. Il existe des systèmes Doppler multiportes, qui explorent la circulation à plusieurs profondeurs simultanément. Les appareils Doppler pulsé sont très utilisés dans l'exploration de la circulation abdominale et intracrânienne, ainsi que pour étudier les flux intracardiaques. Ils sont à la base des systèmes d'imagerie du sang circulant par Doppler couleur.

1. Association échotomographie et Doppler (système Duplex)

L'exploration du flux dans les vaisseaux profonds ou dans les cavités cardiaques est difficile sans un repérage anatomique précis. Cette investigation devient alors possible grâce à l'utilisation d'un système Doppler pulsé, couplé à un échographe à balayage mécanique ou électronique. Certains éléments du capteur sont alors utilisés en alternance, pour l'imagerie et l'exploration Doppler. Après avoir repéré les structures cardiaques ou vasculaires sur l'image échographique, on positionne dans cette image la ligne de visée et la fenêtre d'exploration Doppler. Ce système combiné permet de connaître simultanément le calibre des vaisseaux ou de l'orifice cardiaque étudié et la vitesse du sang, et donc de calculer le débit sanguin à travers la peau ou d'effectuer une corrélation entre les perturbations hémodynamiques et les anomalies morphologiques.

2. Imagerie Doppler couleur

En utilisant un système Doppler pulsé multiporte, il est possible d'étudier la circulation à plusieurs profondeurs simultanément. Si on translate rapidement la ligne de visée Doppler, on peut effectuer une cartographie des flux sanguins. Un code de couleurs permet de présenter par exemple en rouge le sang qui se déplace vers le capteur (effet Doppler positif) et en bleu le sang qui s'éloigne du capteur (effet Doppler négatif). L'intensité de la couleur est fonction de l'amplitude du vecteur vitesse. On peut ainsi superposer sur une même coupe, en échelle de gris, les structures cardiaques ou vasculaires, et en échelle colorée les vitesses d'écoulement sanguin. Une variante consiste à moduler l'échelle de couleur par l'énergie du signal Doppler et non pas par la valeur de la variation de fréquence Doppler.

Cette « angiographie à ultrasons » est extrêmement importante pour les diagnostics de malformations cardiaques chez le nouveau-né, l'étude des valvulopathies acquises en cardiologie adulte, l'exploration des maladies vasculaires et la recherche d'anomalies de la circulation chez le fœtus ou dans les tumeurs. Ces appareils se généralisent de plus en plus en raison de leur intérêt diagnostique majeur.

VIII - Applications diagnostiques

On distingue schématiquement quatre grands domaines d'application de routine des ultrasons en diagnostic médical :

- l'imagerie des tissus peu mobiles et directement accessibles à travers la peau : c'est le cas par exemple de l'utérus, du foie et des voies biliaires, des reins, de la rate, des seins, de la thyroïde, ...
- l'exploration des structures en mouvement, comme le cœur et le sang circulant, qui repose sur l'utilisation de techniques combinant échographie rapide, techniques Doppler et enregistrement du mouvement des structures en mode temps-mouvement (ou T.M.).
- l'échographie par voie endocavitaire lorsqu'il est nécessaire de rapprocher le capteur de la région à explorer pour gagner en résolution, ou pour éviter de traverser des structures osseuses ou gazeuses. On utilise pour cela des capteurs miniaturisés et de fréquence ultrasonore relativement élevée.
- les applications nouvelles qui relèvent d'équipes spécialisées, comme l'échographie-Doppler cérébrale, l'échographie avec produits de contraste, l'échographie 3D, l'échographie interventionnelle avec guidage de ponctions ou de gestes thérapeutiques, l'imagerie ultrasonore paramétrique, ...

IX - Caractérisation tissulaire par ultrasons

De nombreux travaux ont été réalisés depuis une vingtaine d'années pour caractériser les tissus par ultrasons. Jusqu'à présent l'imagerie échographique n'a que peu bénéficié de ces recherches, car il est souvent nécessaire de mettre en œuvre un traitement de signal relativement long et complexe. Les premières applications de routine reposent sur deux grandes techniques :

- la caractérisation de l'os par mesure de la vitesse et de l'atténuation d'une onde acoustique se propageant dans le calcaneum par exemple,
- l'étude de la réponse non linéaire des tissus aux variations de pression instantanées liées au passage de l'onde acoustique (imagerie harmonique).

D'autres projets sont en cours comme la mesure de l'élasticité tissulaire en appliquant une onde très basse fréquence pour stimuler les tissus et en utilisant l'onde ultrasonore pour étudier la déformation en profondeur.

X - Produits de contraste ultrasonore

Plusieurs compagnies pharmaceutiques développent des microbulles de gaz encapsulé, d'un diamètre de quelques microns, qui peuvent être injectées par voie intraveineuse. Ces microbulles constituent un moyen de contraste, car le gaz est un puissant réflecteur des ultrasons.

Les applications majeures envisagées sont nombreuses :

- l'étude de la vascularisation des tissus,
- la caractérisation de certaines tumeurs,
- l'exploration de la fonction cardiaque et du flux coronaire,
- l'étude des shunts entre le cœur droit et le cœur gauche, etc.

Dans l'avenir on envisage d'utiliser ces microbulles pour transporter des molécules à visée thérapeutique. Celles-ci pourraient être délivrées localement par rupture des microbulles dans un champ ultrasonore de moyenne puissance.

XI - Conclusion

Les techniques ultrasonores ont été considérablement développées pour l'imagerie médicale. Les performances atteintes par les appareils modernes sont tout à fait spectaculaires. Les recherches en cours sur l'imagerie 3D, la miniaturisation des capteurs et la caractérisation tissulaire ouvrent des voies nouvelles au développement des applications médicales et industrielles.

Modèles animaux et Imagerie

Frédéric PAIN
 Institut de Physique Nucléaire d'Orsay
 Groupe Interfaces Physique Biologie
 Université Paris XI, Orsay
 mél : pain@ipno.in2p3.fr

Au cours des quinze dernières années de nombreux modèles animaux mimant les pathologies humaines ont été mis au point, grâce auxquels de nouvelles approches fondamentales et thérapeutiques de ces maladies ont été développées. Bien que, par soucis d'éthique, d'importants efforts soient faits pour remplacer les études animales par des cultures cellulaires ou encore par des modèles informatiques, rongeurs et primates restent des acteurs incontournables de la mise au point de nouveaux traitements. En particulier, la présence chez la souris de gènes équivalents à ceux de l'homme et la possibilité de manipuler simplement le génome de la souris ont conduit à une multiplication du nombre de modèles murins. La caractérisation et la réalisation d'études in vivo sur ces modèles requièrent la mise en œuvre de techniques adaptées. Développées initialement pour des études cliniques, ces techniques ont été adaptées au cours de la décennie passée aux études sur modèles animaux. Après avoir présenté la notion de modèle animal et le cadre tant scientifique qu'éthique de leur utilisation en recherche biomédicale, nous présenterons les contraintes propres à l'étude de ces modèles par les différentes modalités d'imagerie, puis nous examinerons les développements instrumentaux en cours en nous appuyant sur les premiers résultats biologiques obtenus.

I - Modèles animaux en recherche biomédicale

Qu'est ce qu'un « bon » modèle ?

Dans la démarche scientifique biomédicale, le modèle expérimental intervient à différents niveaux d'expérimentation, du microscopique, (molécules, organites, cellules) au macroscopique (organe, organisme dans son ensemble, voire population d'organismes). Il s'agit d'obtenir une représentation simplifiée d'un système biologique qu'il n'est pas possible d'étudier directement pour des raisons éthiques, techniques ou économiques. En pathologie, le modèle animal joue un rôle clé puisqu'il va permettre à partir d'une « reproduction » d'une pathologie humaine de tester des hypothèses sur les causes, les mécanismes et la thérapie de ces maladies. Cependant pour garder une démarche rigoureuse, le modèle doit être validé précautionneusement et doit répondre à un certain nombre de critères. En premier lieu, il doit satisfaire au critère d'isomorphisme, c'est-à-dire que les symptômes observés chez l'animal doivent être semblables à ceux observés chez l'humain. Le modèle doit également présenter des mécanismes et des causes identiques à eux observés chez l'homme, dans la mesure où ceux-ci sont connus. Enfin, le modèle doit répondre de la

même manière que l'homme aux différents traitements, aussi bien positivement que négativement. Par exemple, l'administration de L-dopa doit réduire les symptômes Parkinsoniens chez un modèle animal qui a pour finalité de mimer cette pathologie. La limite de l'analogie dépend alors de la posologie qui doit être adaptée à l'animal en tenant compte des différences physiologiques (masse, débit sanguin) avec l'homme. Evidemment il n'existe pas de modèle parfait et il faut se garder d'extrapoler trop directement à l'homme des résultats obtenus chez le rongeur. En tout état de cause, l'étude des modèles aboutit à mieux connaître les mécanismes et les causes d'une pathologie et conduit donc souvent à affiner le modèle initial [1].

Obtention d'un modèle animal

On peut distinguer deux catégories de modèles animaux : les modèles « spontanés » et les modèles « construits » [2]. Il existe par exemple des lignées de poulets ou de rats qui présentent spontanément des états épileptiques très semblables aux crises observées chez l'homme. Ces crises épileptiques sont déclenchées simplement par un stimulus visuel ou auditif. Cette lignée de poulets « épileptiques » constitue un très bon outil d'étude puisqu'elle reproduit les symptômes et les mécanismes de la crise épileptique et ce de manière tout à fait contrôlée. Toutefois les modèles spontanés sont rares et il est souvent nécessaire de « construire » son modèle. On peut alors selon les cas faire appel à une méthode lésionnelle ou à des méthodes chimiques comme l'injection localisée d'un produit neurotoxique pour reproduire la dégénérescence neuronale progressive de la maladie de Parkinson. Enfin, les modèles génétiques s'appuient sur des modifications du patrimoine génétique en éliminant ou en surexprimant un ou plusieurs gènes (on parle de souris « knock-out » ou « knock-in »). Ces modèles génétiques ont connu un essor très important au cours des années passées du fait des progrès techniques importants dans la manipulation du génome et de la connaissance relativement bonne du génome de la souris qui présente de nombreuses homologies avec le génome humain [3, 4].

Expérimentation animale et éthique

L'expérimentation animale ne peut pas faire l'économie d'une réflexion éthique approfondie. De fait, dès 1959, deux chercheurs britanniques (William Russel et Rex Burch) ont proposé une base éthique aux expériences biomédicales mettant en jeu des animaux [5]. Ces règles connues sous le nom des 3 R pour « Remplacement, Réduction et Raffinement » sont désormais inscrites dans les textes de lois européennes [6]. Il faut :

- Remplacer l'expérimentation animale aussi souvent que possible par la modélisation, les cultures cellulaires ou les modèles informatiques

(dans le cadre de l'enseignement de la physiologie il existe notamment un kit virtuel de la dissection de la grenouille [7]).

- Réduire le nombre des animaux mis en jeu dans la mesure du possible (bibliographie pour éviter les expériences redondantes, mesure simultanée d'un maximum de paramètres, minimum de statistique significative).
- Raffiner les expériences en choisissant des protocoles qui minimisent le stress et la douleur et en améliorant les conditions d'élevage.

Au-delà de ces règles éthiques, on a assisté au cours des dernières décennies à une prise de conscience morale des chercheurs parallèlement à une montée en puissance des mouvements d'opinions pro-animaux. On ne peut que se féliciter du développement de solutions alternatives, notamment via la mise au point de nouvelles techniques moléculaires *in vitro*, qui ont conduit à une diminution très nette du nombre d'animaux utilisés. En France on est passé de 7 Millions en 1980 à 2,6 Millions en 1997, dont 85% sont des rongeurs ou des lapins [6]. Cependant, pour certaines études, et notamment pour l'évaluation pré-clinique des nouvelles thérapeutiques, il n'est pas possible de s'affranchir des études sur modèles animaux.

II - Imagerie des modèles animaux : contraintes, techniques perspectives

Intérêt des techniques d'imagerie

Pour caractériser et étudier les modèles, il est indispensable de disposer d'outils adaptés. De nombreuses techniques, allant de l'observation du comportement à la mesure de paramètres physiologiques précis, ont été développées par le passé. Les techniques histologiques, impliquant le sacrifice de l'animal, puis l'examen au microscope ou par imagerie planaire de fines coupes de tissus, restent couramment employées. Ces techniques *ex vivo* présentent l'inconvénient majeur du sacrifice de l'animal, qui implique l'utilisation de nombreux animaux dans des procédures longues et coûteuses. Afin de répondre à cette difficulté les techniques d'imagerie *in vivo* se sont progressivement imposées au cours de la décennie passée. En effet, l'imagerie tomographique permet d'obtenir sur un même et unique animal des images 2D ou 3D et ce, sans porter atteinte à son intégrité physique (hormis l'anesthésie et, pour certaines modalités, l'injection d'un traceur ou d'un agent de contraste). Cet aspect non invasif de l'imagerie autorise un suivi dans le temps d'un même animal (on parle d'études « longitudinales ») et donc l'étude du décours temporel d'une maladie ou d'un traitement sur un individu, et permet de s'affranchir des différences interindividuelles qui nécessitent habituellement une normalisation.

Contraintes propres à l'imagerie animale

L'imagerie du petit animal (rat et souris) connaît donc un développement rapide qui est rendu possible par des avancées technologiques importantes. En effet, l'imagerie animale présente des contraintes spécifiques qui autorisent rarement la transposition immédiate des techniques d'imagerie clinique.

La contrainte la plus évidente est liée aux dimensions réduites des structures étudiées. A titre d'exemple, la différence d'échelle entre les structures cérébrales de l'homme (quelques cm) et du rat (quelques 100µm voire quelques 10µm) impose une amélioration drastique de la résolution spatiale. L'obtention d'informations anatomiques chez le rongeur impose d'atteindre des résolutions spatiales de quelques centaines de µm à quelques dizaines de µm et la mesure de paramètres fonctionnels est possible pour des résolutions spatiales de l'ordre du mm. Ce gain en résolution s'accompagne d'une diminution dramatique de la « quantité d'information » mesurable. En effet, si l'on gagne un facteur 10 en résolution spatiale sur les 3 dimensions, on aura un volume analysé élémentaire (ou « voxel ») qui sera 1000 fois plus petit et donc, à concentration égale, un nombre de molécules détectables 1000 fois plus petit. Il est donc nécessaire de mettre au point des systèmes de très haute sensibilité, ce facteur demeurant encore souvent le facteur limitant [8]. Enfin, il faut considérer une troisième contrainte qui découle de la nécessité d'anesthésier l'animal. En effet, s'il est possible de demander à un patient (de bonne volonté) de demeurer immobile dans un scanner ou un IRM, il est indispensable d'immobiliser un animal durant l'acquisition de l'image. Or l'anesthésie présente différents inconvénients : d'origine chimique, elle peut perturber les phénomènes étudiés et elle ne permet pas de réaliser des études qui nécessitent la conscience de l'animal pour réaliser une tâche (manger, boire, parcourir un labyrinthe).

Différentes modalités pour mesurer différents paramètres complémentaires

Les différentes techniques d'imagerie pour l'étude des rongeurs et primates ont pris une importance considérable au cours de la dernière décennie. Ces techniques donnent en effet accès à de nombreux paramètres anatomiques, physiologiques (le fonctionnement biologique d'un organisme ou d'un organe), pharmacologiques (le suivi cinétique de la fixation d'une molécule). Récemment le terme d' « imagerie moléculaire » a été proposé pour décrire l'imagerie des phénomènes à une échelle moléculaire comme, par exemple, l'expression d'un gène ou l'action d'une enzyme.

Parmi les différentes modalités d'imagerie, on peut distinguer deux grandes familles : la première regroupe l'imagerie X, l'échographie ultrasons et l'imagerie par résonance magnétique (IRM) et s'appuie sur la détection de signaux intrinsèques à l'organisme étudié : atténuation du rayonnement X par les différents tissus, échos ultrasonores ou vélocimétrie Doppler, propriétés magnétiques locales. La seconde concerne les techniques qui se fondent sur la détection après injection ou inhalation d'un traceur spécifique d'une cible biologique. Il s'agit principalement de l'imagerie nucléaire qui repose sur la détection de molécules radiomarquées et des techniques optiques qui s'appuient sur la détection de molécules émettrices de photons optiques. Certaines modalités d'IRM en cours de développement ont également recours à l'injection de traceurs.

Imagerie X : imagerie anatomique pour le criblage phénotypique

L'imagerie X pour le petit animal a été développée récemment pour répondre à un besoin de rapidité dans l'analyse des très nombreux modèles génétiques. Les chercheurs veulent en effet savoir comment les mutations génétiques introduites affectent les caractéristiques anatomiques, fonctionnelles et métaboliques du modèle. Les contraintes en résolution spatiale liées aux faibles dimensions des structures d'intérêt ont conduit au développement d'imageurs spécifiques (source X basse énergie et détecteur CCD/écran de phosphore) qui présentent une résolution spatiale inférieure à 50 μ m. Le développement du premier microtomographe X [9] est le fruit d'une collaboration étroite entre biologistes et physiciens de l'Université de Duke (Oak Ridge, USA) qui possède une très importante « collection » de souris transgéniques. L'analyse rapide (il faut environ 15 minutes pour obtenir une image 3D avec une résolution de 50 μ) du phénotype des ces souris permet un gain de temps très important en comparaisons des techniques histologiques car il n'est plus nécessaire de disséquer une souris pour caractériser ses organes internes et une rationalisation du développement des modèles et de leur analyse [10]. Cette technique rapide et relativement peu coûteuse présente cependant l'inconvénient de présenter un contraste peu marqué pour les tissus mous. Dans ce cas l'utilisation des ultrasons constitue une alternative intéressante.

Ultrasons : criblage phénotypique, imagerie Doppler et interventionnelle

L'utilisation de fréquences ultrasonores significativement plus élevées que celles utilisées en imagerie humaine (20 à 100MHz contre 2 à 12MHz chez l'homme) permet l'observation anatomique de la plupart des organes à l'exception du cerveau, des poumons et du squelette. Ce n'est que récemment grâce au développement de nouveaux capteurs polymères piézo-électriques que de telles fréquences ont pu être mises en œuvre.

L'analyse des échos ultrasonores réfléchis par les tissus permet la visualisation de la morphologie des souris avec une résolution spatiale de l'ordre de quelques dizaines de μm . Elle permet également en utilisant les techniques de mesure Doppler de déterminer des paramètres fonctionnels concernant la micro-circulation sanguine (vitesse et sens de circulation) [11]. Enfin, la possibilité de visualiser en temps réel la souris dès le stade embryonnaire et avec une très bonne résolution spatiale permet l'étude du développement de l'embryon et la détermination précise du stade d'apparition d'anomalies génétiques [12, 13].

Malgré la légèreté de son instrumentation et son faible coût, l'imagerie ultrasonore reste encore marginale. Le principal inconvénient de la technique est lié à la diminution de la pénétration des ultrasons avec l'augmentation de leur fréquence. Ainsi au-delà de 80MHz, la technique est limitée à l'étude de structures superficielles comme l'œil par exemple.

L'IRM fournit des données anatomiques, fonctionnelles et pharmacologiques

Une dernière technique permet d'obtenir des informations anatomiques de très haute résolution spatiale : l'imagerie IRM. Concernant l'imagerie du petit animal on parle souvent de Microscopie par Résonance Magnétique. En effet, le défi pour transposer cette technique à l'imagerie animale est un gain en résolution considérable : les volumes élémentaires imagés sont de l'ordre de $50\mu\text{m} \times 50\mu\text{m} \times 500\mu\text{m}$ soit 10000 fois moins importants que chez l'homme. Les solutions techniques reposent sur le développement de gradient de champs magnétiques adaptés et l'utilisation de champs magnétiques intenses.

Par ailleurs, afin de conserver une sensibilité de détection raisonnable il est nécessaire de faire un compromis entre la durée de l'acquisition (on intègre le signal disponible sur des durées allant de quelques minutes à quelques heures) et la résolution temporelle. Selon le mode d'analyse des signaux IRM, on obtient une information anatomique de très haute résolution spatiale ou des informations dites « fonctionnelles » caractérisant le métabolisme énergétique ou la perfusion sanguine locale.

L'imagerie anatomique ou morphologique permet de caractériser la forme, le volume d'organes ou encore la structure des tissus [14]. L'IRM présente pour les tissus mous un contraste largement supérieur à celui observé pour l'imagerie X. L'une des applications majeures est le criblage phénotypique à haut débit des nombreux modèles murins [15]. Par ailleurs, l'IRM permet également de mesurer des paramètres fonctionnels, en s'appuyant sur la modification de propriétés magnétiques locales liées au taux d'oxygénation de l'hémoglobine. On réalise alors des cartes d'activation cérébrale suite à un stimulus. De manière simpliste, l'objectif

est de mieux comprendre le cheminement de l'information et l'organisation cérébrale. D'autre part, l'imagerie IRM a également été mise en œuvre pour tester de l'effet nouvelles molécules thérapeutiques sur le métabolisme énergétique ou le débit sanguin (par exemple sur des modèles d'accidents cérébraux vasculaires). Enfin, dans le cadre de « l'imagerie moléculaire » l'IRM peut également s'appuyer sur l'injection d'agent de contraste Gd ou de marqueurs magnétiques (anticorps associé à une nanoparticule) [16].

L'IRM est donc une technique extrêmement riche qui, outre une information anatomique de très haute résolution, permet la mesure de nombreux paramètres physiologiques ou pharmacologiques. Cette technique présente cependant une résolution temporelle limitée par sa sensibilité relativement faible ainsi qu'un coût élevé. Il est néanmoins possible d'adapter les IRM cliniques sans toutefois égaler les performances des systèmes dédiés à l'imagerie du petit animal.

La seconde grande famille de techniques regroupe l'imagerie nucléaire et l'imagerie optique dont le point commun est de s'appuyer sur la détection, après injection par voie sanguine, de molécules marquées qui vont interagir de façon spécifique avec une cible biologique.

Radiotomographie : l'atout de la sensibilité et de la quantification

En imagerie nucléaire, on mesure au cours du temps la fixation spécifique d'un traceur radiomarké, par un isotope β^+ en Tomographie par Emission de Positron (TEP) ou un émetteur γ en Tomographie par Emission MonoPhotonique (TEMP). On a ainsi accès à une information spatiale (où s'est fixé le traceur ?) et une information temporelle (quelle est la cinétique de fixation du traceur ?). La construction de la molécule spécifique d'une cible biologique et son marquage, généralement réalisé par substitution ou ajout d'un atome radioactif à la molécule initiale, requièrent l'intervention de chimistes et de radiochimistes. Les caméras TEP et TEMP cliniques présentant une résolution spatiale de plusieurs millimètres, un important travail instrumental a été initié au milieu des années 90 pour le développement d'imageurs dédiés, de résolution spatiale millimétrique, grâce à une architecture adaptée, plus compacte [17-20]. Sans rentrer dans les détails, cela a été rendu possible par les progrès instrumentaux des détecteurs de radioactivité au cours de la dernière décennie (cristaux scintillants et photodétecteurs).

L'imagerie nucléaire possède l'atout essentiel d'une excellente sensibilité puisqu'elle permet de quantifier des concentrations moléculaires jusqu'à 10^{-12} mole/l. De plus l'imagerie TEP animale bénéficie d'une très grande variété de molécules radiomarkées déjà développée pour l'imagerie clinique. Parmi ces différentes molécules, on peut distinguer le

^{18}F -Fluorodeoxyglucose (FDG) qui est un analogue du glucose (substrat énergétique des cellules) marqué au fluor 18 (isotope β^+ de période radioactive ~ 2 heures). Après injection intraveineuse, cette molécule radiomarkée suit le même chemin métabolique qu'une molécule de glucose puis s'accumule dans les cellules, à la différence du glucose qui va, lui, subir une cascade de réactions enzymatiques aboutissant à la production d'énergie utilisable par la cellule. Cette accumulation du traceur au cours du temps traduit le métabolisme énergétique local. Le FDG est également la molécule de référence pour l'étude des modèles du cancer puisque les cellules cancéreuses présentent un métabolisme énergétique plus élevé que celui des cellules saines. Il est donc possible de suivre et de caractériser le développement tumoral et d'évaluer différentes approches thérapeutiques. Cette technique a également été validée pour les études cardiaques. On voit sur la figure 1 une image TEP cardiaque ^{18}F -FDG obtenue chez un rat normal (en haut) et chez un rat souffrant d'une insuffisance myocardique chronique, induite par ligature permanente de l'artère descendante antérieure gauche (en bas). L'interruption de la perfusion sanguine est responsable du sévère défaut de captation dans la région myocardique antéro-latérale du ventricule gauche, indiquant l'absence d'activité métabolique dans cette région nécrosée. Ce modèle a été utilisé pour l'évaluation de nouvelles thérapies angiogéniques et cellulaires de l'insuffisance cardiaque chronique. L'imagerie nucléaire possède par ailleurs un intérêt unique pour les études pharmacologiques, pour laquelle elle devrait tendre à remplacer les études *ex vivo* qui nécessitent le sacrifice de nombreux animaux. En effet, pour obtenir la biodistribution et la cinétique de fixation d'une molécule, ces études nécessitent le sacrifice de nombreux animaux. La figure 2 montre la caractérisation d'une mort neuronale progressive et sélective chez un rat modèle de la maladie de Huntington. Cette étude démontre l'intérêt de l'imagerie qui permet la reproduction d'une mesure chez un même animal à intervalles de temps choisis. La caractérisation *in vivo* de tels modèles permet alors d'explorer de nouvelles voies thérapeutiques, comme par exemple, dans le cas des maladies neurodégénératives, la greffe de neurones embryonnaires.

Enfin, on peut mesurer l'expression génique chez l'animal vivant grâce à la mise au point récente de systèmes de gènes rapporteurs dédiés à l'imagerie TEP. Ces gènes, introduits par transgénèse, sont placés sous le contrôle du même promoteur que le gène d'intérêt et s'expriment donc de la même façon que lui. La protéine codée par le gène rapporteur interagit avec un traceur radiomarké judicieusement choisi et le "piège" localement, de sorte que la concentration du traceur est directement proportionnelle à l'expression du gène d'intérêt [21]. Cette technique est un premier pas vers l'imagerie de l'expression génique chez l'homme, et pourrait faciliter la mise au point de thérapies géniques ou l'étude de l'expression des gènes au cours du développement.

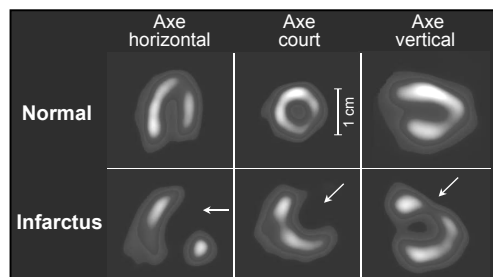
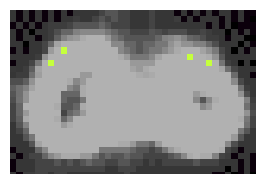
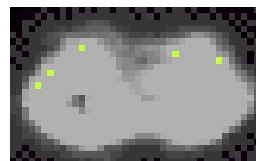


Figure 1 : Imagerie cardiaque TEP ^{18}F -FDG : caractérisation de l'insuffisance cardiaque d'un rat modèle d'infarctus (en bas) comparé à un rat normal (en haut).

(Avec la permission de Roger Lecomte, Centre d'imagerie métabolique et fonctionnelle, Université de Sherbrooke, Canada)



3 jours
post injection



5 jours
post injection

Figure 2 : Caractérisation de la neuro-dégénérescence striatale pro-gressive chez un rat modèle de la maladie de Huntington (coupes frontales 3 et 5 jours après injection unilatérale d'un neurotoxique).

(Collaboration Institut de Physique Nucléaire Orsay et Service Hospitalier Frédéric Joliot, Orsay, CNRS CEA)

En résumé, l'imagerie nucléaire présente des atouts certains, en particulier son excellente sensibilité et la grande variété de traceurs disponibles qui permettent l'imagerie du métabolisme énergétique, de la pharmacocinétique de molécules d'intérêt et de l'expression génique. Cependant ces techniques demeurent coûteuses et nécessitent, en particulier pour la TEP, la mise en place d'une infrastructure lourde (Cyclotron, Service de radiochimie, imageur dédié, radioprotection).

Imagerie optique : l'émergence de nouvelles techniques *in vivo*

L'imagerie optique *in vivo* chez le petit animal s'est développée très récemment. On distingue les techniques de fluorescence qui s'appuient sur la détection de fluorochromes après excitation transcutanée par un laser et les techniques de bioluminescence qui reposent sur l'utilisation de molécules qui émettent naturellement des photons après injection d'un substrat donné. Dans les deux cas ces techniques sont particulièrement bien adaptées au suivi de cellules. On sait en effet construire des cellules qui vont synthétiser une molécule fluorescente (la plus connue est la Green Fluorescent Protein ou GFP) ou une « enzyme bioluminescente » comme la Luciférase. Il est alors possible dans les deux cas d'étudier une population de cellules en particulier de cellules tumorales humaines implantées chez la souris et qui produisent de la GFP ou de la Luciférase [22]. On peut alors caractériser au cours du temps le développement ou la régression du cancer, la présence de métastases, l'effet d'agents pharmaceutiques [23]. Ces techniques permettent également le suivi de l'expression génique sur le même principe que celui détaillé plus haut, le

gène rapporteur pouvant être par exemple le gène codant pour la Luciférase [24].

Outre leur simplicité de mise en œuvre (la détection se fait généralement par une simple caméra CCD refroidie) et leur coût modéré, ces techniques présentent également l'avantage d'une résolution temporelle élevée bien adaptée à l'étude des phénomènes cinétiques rapides. Néanmoins ces techniques d'imagerie 2D fournissent une information généralement qualitative et souffrent pour la bioluminescence ou l'utilisation de la GFP d'être limitées aux études des couches superficielles des tissus, du fait de la pénétration limitée de la lumière. Des résultats récents proposent la mise en œuvre d'une imagerie tomographique optique qui permettrait en partie de s'affranchir de ces contraintes.

Conclusion

Après une dizaine d'année de développements instrumentaux, l'imagerie du petit animal entre dans une seconde phase. Une première génération d'imageurs performants ont été mis en œuvre et franchissent les uns après les autres le stade de l'industrialisation (MicroTEP en 1997, Microtomographe X en 2000, systèmes optiques pour la bioluminescence en 2001). Au niveau international, les grands laboratoires privés et publics sont en train de s'équiper et en France on assiste aux balbutiements de la mise en œuvre de plates-formes d'imagerie animale regroupant différentes modalités. L'imagerie du petit animal est un domaine dynamique à l'aspect interdisciplinaire très marqué regroupant chimistes biologistes, médecins, physiciens, industriels. Cependant, si les techniques ont d'ores et déjà dépassé le stade de la validation, l'imagerie doit encore faire ses preuves en termes de résultats biologiques. L'un des résultats attendus est une diminution significative du délai entre la découverte d'un agent pharmaceutique et sa mise sur le marché. De nombreux défis techniques demeurent et de nouvelles techniques notamment optiques vont très probablement émerger au cours des années à venir.

Bibliographie

1. Cenci MA et al., *Animal models of neurological deficits: how relevant is the rat?* Nat Rev Neurosci, 2002. **3**(7): p. 574-9.
2. Meunier JM and Shvaloff A, eds. *Techniques en neurosciences*. Abrégés. 1996, Masson: Paris. 267.
3. Arbeit JM and Hirose R, *Murine mentors: transgenic and knockout models of surgical disease*. Ann Surg, 1999. **229**(1): p. 21-40.
4. Bader M, *Transgenic animal models for neuropharmacology*. Rev Neurosci, 2000. **11**(1): p. 27-36.
5. Russel W and Burch R, *The Principles of Humane Experimental Technique*. 1959, London: Methuen.

6. RDT info N°24 - Le magazine de la recherche européenne, *Une science sans cobaye ?* Novembre 1999: p. 26-27.
http://europa.eu.int/comm/research/rtdinfo_fr.html
7. University of California Lawrence Berkeley Laboratory, Berkeley, CA, *The Whole Frog Project*. 1994.
<http://george.lbl.gov/ITG.hm.pg.docs/Whole.Frog/Whole.Frog.html>
8. Hume SP et al., *Pharmacological constraints associated with positron emission tomographic scanning of small laboratory animals*. Eur J Nucl Med, 1998. **25**(2): p. 173-6. 9
9. Paulus MJ, *A new X-Ray computed tomography system for laboratory mouse imaging*. IEEE Trans Nucl Sci, 1999. **46**: p. 558-564.
10. Paulus MJ et al., *A review of high-resolution X-ray computed tomography and other imaging modalities for small animal research*. Lab Anim (NY), 2001. **30**(3): p. 36-45.
11. Foster FS et al., *Ultrasound for the visualization and quantification of tumor microcirculation*. Cancer Metastasis Rev, 2000. **19**(1-2): p. 131-8.
12. Turnbull DH et al., *Ultrasound backscatter microscope analysis of early mouse embryonic brain development*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1995. **92**(6): p. 2239-43.
13. Srinivasan S et al., *Noninvasive, in utero imaging of mouse embryonic heart development with 40-MHz echocardiography*. Circulation, 1998. **98**(9): p. 912-8.
14. Ruff J et al., *Magnetic resonance microimaging for noninvasive quantification of myocardial function and mass in the mouse*. Magn Reson Med, 1998. **40**(1): p. 43-8.
15. Scotland P et al., *Nervous system defects of AnkyrinB (-/-) mice suggest functional overlap between the cell adhesion molecule L1 and 440-kD AnkyrinB in premyelinated axons*. J Cell Biol, 1998. **143**(5): p. 1305-15.
16. Weissleder R et al., *In vivo magnetic resonance imaging of transgene expression*. Nat Med, 2000. **6**(3): p. 351-5.
17. Lecomte R et al., *Initial results from the Sherbrooke avalanche photodiode positron tomograph*. IEEE Trans Nucl Sci, 1996. **43**(3): p. 1952-1957.
18. Jeavons AP et al., *A 3D HIDAC-PET Camera with Sub-millimetre Resolution for imaging small animals*. IEEE Trans Nucl Sci, 1999. **46**(3): p. 468-473.
19. Chatziionannou AF et al., *Performance evaluation of microPET: a high-resolution lutetium oxyorthosilicate PET scanner for animal imaging*. J Nucl Med, 1999. **40**(7): p. 1164-1175.
20. Valda-Ochoa A et al., *An original emission tomograph for in vivo brain imaging of small animals*. IEEE Trans Nucl Sci, 1997. **44**(4): p. 1533-1537.
21. Chatziioannou AF, *Molecular imaging of small animals with dedicated PET tomographs*. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2002. **29**(1): p. 98-114.
22. Weissleder R, *Scaling down imaging : molecular mapping of cancer in mice*. Nature Reviews, 2002. **2**: p. 1-8.
23. Rehemtulla A et al., *Rapid and quantitative assessment of cancer treatment response using in vivo bioluminescence imaging*. Neoplasia, 2000. **2**(6): p. 491-5.
24. Zhang W et al., *Rapid in vivo functional analysis of transgenes in mice using whole body imaging of luciferase expression*. Transgenic Res, 2001. **10**(5): p. 423-34.

Laboratoires sur puces : physique et chimie dans les coulisses de la révolution génomique

Jean-Louis VIOVY

Équipe physico-chimie et séparation de l'ADN

Institut Curie, Paris

mél : Jean-Louis.Viovy@curie.fr

La plupart des méthodes de diagnostic, ainsi que de nombreux problèmes posés par la recherche biomédicale, impliquent d'analyser les constituants d'un fluide biologique. La biochimie analytique est ainsi au coeur des progrès en diagnostic, et elle doit évoluer de pair avec la connaissance de plus en plus précise et de plus en plus complète que nous avons de la biologie moléculaire, en particulier suite à la somme considérable d'informations nouvelles apportée par la génomique. Pour s'adapter à ces nouveaux défis, les méthodes analytiques doivent faire preuve d'imagination et puiser dans les progrès effectués dans les domaines connexes. On est à l'aube d'une révolution liée aux microlaboratoires ou « lab-on-a-chip » qui empruntent largement aux techniques développées pour la microélectronique pour construire des systèmes intégrant sur une « puce » l'ensemble des processus nécessaires à l'analyse d'un produit. La physicochimie fournit aussi aux méthodes analytiques une large source d'inspiration et une « boîte à outils » féconde. Dans cette conférence, on tentera de montrer comment de nouvelles voies pour la séparation de molécules ou de particules peuvent être ouvertes en puisant dans la très riche panoplie de matériaux et de mécanismes découverts et développés dans le domaine dit de la « matière molle » ou des « fluides complexes » (polymères, colloïdes, cristaux liquides) et par des progrès en instrumentation physique. On donnera quelques exemples dans lesquels des phénomènes ou des matériaux, développés pour des finalités tout à fait différentes, peuvent être utilisés pour donner lieu à des fonctionnalités nouvelles pour l'analyse ou la séparation de biomolécules (liste non exhaustive) :

- des polymères « associatifs », porteurs de greffons latéraux qui deviennent hydrophobes à haute température, permettent de faire des milieux qui gélifient réversiblement par augmentation de température, pour le séquençage de l'ADN dans des microcapillaires,

- d'autres polymères combinant des parties hydrophiles et des parties hydrophobes, sont utilisés pour diagnostiquer des mutations à l'aide de méthodes d'électrochromatographie ultra-miniaturisées,

- des particules magnétiques, qui forment sous l'action d'un champ magnétique un cristal colloïdal quasi-bidimensionnel, sont utilisées pour trier des chromosomes ou des cellules dans des « laboratoires sur puces ».

Les biomatériaux : des matériaux doublement exigeants

Charles BAQUEY

Inserm, Université Victor Segalen, Bordeaux

mél : charles.baquey@bordeaux.inserm.fr

L'inéluctable outrage du temps sur le corps humain ainsi que les nombreuses maladies liées au passage des années justifient des besoins croissants en organes de remplacement. Les réussites remarquables obtenues par les transplantations classiques (réussites techniques associées à la multiplication des médicaments antirejet et à la maîtrise de leur administration) sont aussi accompagnées de différents inconvénients au premier rang desquels on trouve la pénurie du nombre de greffons : la liste des demandeurs s'allonge, l'opposition aux prélèvements d'organes progresse, le nombre de transplantation d'organes plafonne. De plus, il s'est avéré au cours des dernières années que les transplantations d'organes présentaient un risque significatif de transmission d'agents pathogènes. Enfin, l'inconvénient majeur réside dans l'obligation du suivi d'un traitement immunosuppresseur. Scientifiques et médecins ont depuis longtemps cherché des solutions alternatives à la transplantation d'organes humains.

Selon la définition élaborée à Chester en 1986 par la Conférence de Consensus organisée sous l'égide de la Société Européenne des Biomateriaux, les biomatériaux sont des matériaux non vivants, utilisés dans un appareil médical et conçus pour interagir avec des systèmes biologiques, qu'ils participent à la constitution d'un dispositif à visée diagnostique ou à celle d'un substitut de tissu ou d'organe ou encore à celle d'un dispositif de suppléance (ou d'assistance) fonctionnelle.

Depuis les dispositifs médicaux à usage unique jusqu'aux prothèses implantées à demeure, une grande variété de produits impliquent l'utilisation de biomatériaux. Leur caractéristique commune est la biocompatibilité, propriété dont le caractère multiparamétrique en fait une fonction difficile à mesurer ou à évaluer objectivement.

La biocompatibilité d'un implant implique qu'il soit bien accepté par les tissus d'accueil, voire bien intégré au sein de ces derniers, d'où le terme de biointégration couramment utilisé pour désigner le résultat idéal que peu (sinon aucun) des biomatériaux synthétiques permettent d'observer.

A l'évidence le résultat observable est conditionné par l'évolution de la réaction inflammatoire aiguë consécutive à l'implantation et par le comportement des cellules des tissus périimplantaires. Selon la nature du

matériau, la structure de sa surface, ses caractéristiques physico-chimiques superficielles et la micromorphologie, ces cellules vont être capables d'adhérer au matériau, de s'étaler, de migrer, de proliférer, de synthétiser et de sécréter les composants d'une nouvelle matrice extracellulaire et de contribuer ainsi à l'édification d'un néotissu au sein duquel l'implant est parfaitement intégré. Cette intégration peut s'accompagner ou non d'une résorption de l'implant.

Dans les domaines mettant en jeu des biomatériaux et des matériels implantables, le degré d'exigence en matière de biocompatibilité est plus ou moins élevé selon les dispositifs considérés, les paramètres à prendre en compte étant la durée globale de la confrontation avec l'organisme du patient concerné, le site anatomique impliqué, l'aire des surfaces de contact avec les tissus.

Les matériaux constitutifs des matériels doivent posséder à la fois des propriétés structurales adaptées à la fonction attendue et des propriétés superficielles garantissant l'instauration de relations positives à l'interface matériau-tissus. C'est ainsi que dans le domaine de la substitution vasculaire artérielle de petit calibre, la double exigence passe par la mise au point de matériaux combinant des propriétés structurales garantissant un comportement mécanique satisfaisant et des propriétés superficielles évitant la survenue de phénomènes de thrombose. Cependant, pour de nombreuses applications, il est souvent difficile, voire impossible, de trouver des matériaux répondant aux deux conditions à la fois et la stratégie la plus judicieuse consiste à choisir un matériau satisfaisant la première condition puis à modifier sa surface pour lui conférer les propriétés permettant de satisfaire la deuxième condition. Les produits de telles recherches marquent la transition vers les matériaux hybrides et vers le développement du génie tissulaire dont l'un des axes moteurs concerne la conception de substituts bioartificiels (ou artificiels hybrides) de tissus. Ce domaine représente certainement la nouvelle génération de biomatériaux et matériels implantables qui permettra à la médecine du XXI^{ème} siècle de glisser du statut de médecine réparatrice à celui de médecine régénératrice.

Ultrasons : de la physique fondamentale à la médecine

Pascal LAUGIER¹, Michael TANTER²,
Emmanuel BOSSY¹ et Jean-François AUBRY²

¹LIP UMR CNRS 7623 Université Pierre et Marie Curie Paris 6, Paris

²LOA UMR CNRS, ESCPCI, Université Diderot Paris 7, Paris

mél : laugier@lip.bhdc.jussieu.fr

Les ultrasons en médecine sont utilisés à des fins diagnostiques ou thérapeutiques. Nous ne parlerons ici uniquement que des applications diagnostiques, mais il convient de rappeler que les effets mécaniques des ondes sonores (onde de choc, cavitation) sont exploités pour la destruction des calculs, tandis que les effets thermiques (absorption) le sont pour l'ablation des tumeurs.

La pénétration relativement aisée des ultrasons dans les tissus mous permet l'exploration de la plupart des organes à l'exception du squelette et des poumons. Des images échographiques morphologiques sont obtenues en analysant les échos réfléchis par les tissus. L'analyse des tissus en mouvement en mode « Doppler », quant à elle, permet de réaliser une imagerie fonctionnelle de l'appareil cardiovasculaire et une évaluation des écoulements du sang dans l'arbre vasculaire.

La résolution des images est plus fine lorsque la fréquence des ondes ultrasonores augmente. Toutefois, la transparence aux ultrasons des tissus biologiques décroît très rapidement lorsque la fréquence des ondes augmente. Des fréquences ultrasonores comprises entre 2 et 15 MHz sont habituellement utilisées chez l'homme, pour des résolutions au mieux de l'ordre de quelques centaines de microns.

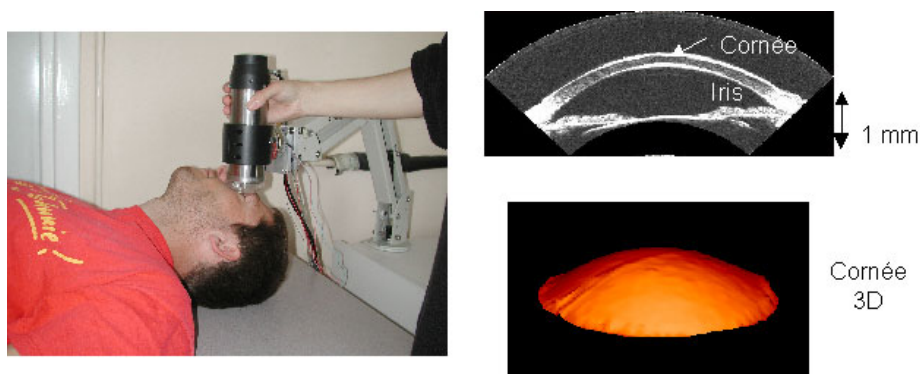


Figure 1 : Imagerie échographique de l'œil à haute fréquence. Image de la partie superficielle du globe oculaire (en haut à droite), et représentation de 3D de la courbure de la cornée (en bas à droite).

Dans les 20 dernières années, des progrès importants ont été réalisés dans la conception et la fabrication de capteurs en matériaux piézo-composites ou polymères. Les capteurs ont ainsi gagné en sensibilité, en largeur de bande et en densité d'éléments. Certains sont miniatures, d'autres résonnent à haute fréquence, entre 20 et 100 MHz. De nouvelles applications se sont développées comme l'exploration des organes par voie endocavitaire ou l'imagerie de l'œil (figure 1) et de la peau (figure 2) avec des résolutions spatiales pouvant atteindre quelques dizaines de microns. Le progrès des calculateurs et des séquences d'acquisition volumique a permis l'obtention d'images 3D spectaculaires, principalement dans le domaine de l'obstétrique.



Figure 2 : Empreinte digitale. Image obtenue avec un capteur de 20 MHz.

L'augmentation de la bande passante des capteurs actuels est telle qu'il est possible désormais d'émettre les ultrasons autour d'une certaine fréquence et de recevoir les échos réfléchis dans d'autres gammes de fréquences. Ceci permet d'exploiter l'effet non-linéaire des interactions ultrasonores avec les tissus pour produire de nouvelles images dites « harmoniques ». Les tissus biologiques sont des matériaux non-linéaires, de telle sorte que des harmoniques de la fréquence d'émission apparaissent graduellement au cours de la propagation dans les tissus. L'imagerie harmonique consiste à sonder un tissu avec une fréquence fondamentale et à recueillir le signal réfléchi à une fréquence harmonique (en principe l'harmonique double) de la fréquence d'émission. Ce nouveau mode d'imagerie permet l'obtention d'images de meilleure qualité.

L'effet non linéaire est également mis à profit avec les produits de contraste ultrasonore. Les agents de contraste sont des microbulles de gaz encapsulées, dont le diamètre est de l'ordre de quelques microns, que l'on injecte dans la circulation par voie intraveineuse. En raison de leur très grande compressibilité, ces microbulles se comportent comme des diffuseurs très réfléchissants (elles sont beaucoup plus réfléchissantes que les globules rouges dans le sang). Elles permettent de rehausser le contraste des images de façon considérable dans tout le compartiment vasculaire et dans les régions richement vascularisées. De plus, ces microbulles ont la particularité de se comporter comme des résonateurs non linéaires avec des fréquences de résonance situées entre 1 et 9 MHz

dans la gamme des fréquences utilisées en échographie. En combinant imagerie harmonique et produits de contraste, on se contente d'écouter à la réception la réponse spécifique des oscillations non linéaires des microbulles à l'harmonique double de la fréquence d'émission pour obtenir un gain supplémentaire de rapport signal sur bruit. Cette technique permet une excellente caractérisation des écoulements et de la perfusion des organes.

Nous venons de donner quelques exemples de développements récents qui ont contribué à l'expansion du champ d'applications des méthodes diagnostiques ultrasonores et leur utilisation par un nombre sans cesse croissant de spécialités médicales. Ces avancées sont liées en grande partie à l'introduction de capteurs plus performants. L'innovation vient également du développement de nouveaux modes d'acquisition ou de traitement des signaux. Ce sont ces développements que nous évoquerons dans la suite. Tous ces développements tentent d'apporter des solutions aux questions suivantes : comment voir mieux, comment voir plus, comment voir des organes considérés inaccessibles jusqu'à maintenant (par exemple le cerveau et le squelette) ? Confrontés à la multiplicité des recherches, nous avons choisi de nous concentrer sur trois domaines récents qui seront à l'origine de nouvelles générations d'appareils dans un futur proche : la focalisation dans les milieux hétérogènes, l'élastographie et la densitométrie osseuse ultrasonore.

Focalisation dans les milieux hétérogènes

La réflexion et la diffusion des ultrasons par des cibles sont à l'origine de la formation de l'image échographique. Alors que l'image des frontières des structures macroscopiques (organe, tumeur) est liée à la réflexion de l'onde incidente par les interfaces, l'échostructure¹ (ou signal diffusé) des parenchymes est due aux échos diffusés par les multiples hétérogénéités diffusantes de petites tailles (comparées à la longueur d'onde) telles que capillaires, tissus conjonctifs, îlots cellulaires, etc.

La technique échographique a bénéficié dans les années 1970 des premiers réseaux de transducteurs pour la focalisation dynamique par formation de voie acoustique. Une focalisation uniforme en fonction de la profondeur peut être obtenue grâce aux procédés de focalisation électronique ou numérique associés aux barrettes de transducteurs. Une barrette multi-éléments est constituée d'une rangée d'éléments piézo-électrique de petite taille (typiquement 64 à 128 éléments de largeur 100 à 500 μm). Le principe de la focalisation électronique à l'émission par une

¹ L'échostructure ou signal diffusé par les tissus biologiques porte également le nom de speckle ultrasonore, par analogie avec le phénomène de speckle laser, car c'est le résultat de l'interférence d'un grand nombre d'ondes diffusées par les diffuseurs microscopiques des tissus.

barrette linéaire est illustrée sur la figure 3. Plusieurs éléments piézo-électriques de la barrette fonctionnent ensemble pour produire un front d'onde convergent. Les éléments sont excités avec des décalages temporels qui correspondent à la courbure de l'onde que l'on désire émettre. Les éléments latéraux les plus éloignés du centre de courbure de l'onde convergente émettent les premiers, l'élément central émet le dernier. Les décalages temporels peuvent être produits par des circuits électroniques (lignes à retard analogiques) – on parle alors de focalisation électronique – ou numériquement – on parle alors de synthèse de faisceau numérique – (Digital Beam Forming). La focalisation à l'émission peut être modifiée à chaque tir, en changeant la loi de retards appliquée aux éléments de l'ouverture. La combinaison de plusieurs distances focales à l'émission améliore la qualité de l'image. En contrepartie, la cadence d'images est diminuée par un facteur égal au nombre de distances focales sélectionnées.

Le même principe est utilisé pour la focalisation à la réception. Une correction de retard est appliquée derrière chaque élément. Cette loi de retard compense exactement les différences de temps de vol liées à la courbure de l'onde reçue et permet de remettre en phase tous les signaux issus d'une cible à la profondeur z : elle réalise ainsi une ouverture focalisante synthétique qui sélectionne les échos provenant de la zone à visualiser. Le grand avantage des réseaux de transducteurs est la possibilité de réaliser une focalisation dynamique (ou focalisation poursuite) en réception. Il est possible d'ajuster à chaque instant la loi de retard électronique à la profondeur d'où proviennent les échos reçus à cet instant. On réalise ainsi l'analogue d'une lentille convergente à focale variable (ou l'analogue de la fonction d'accommodation de l'œil). Le système en réception garde ainsi un pouvoir de résolution optimum à chaque profondeur.

Ces techniques de focalisation reposent sur l'hypothèse que la vitesse du son dans le corps est constante et une correction simple des retards géométrique due aux différences de trajets de propagation peut être obtenue en appliquant une loi de retard cylindrique. Cependant, les fluctuations de vitesse du son observées quand on passe d'un tissu à l'autre (graisse : 1450 m/s ; muscle : 1570 m/s) ou à l'intérieur d'un même organe sont responsables de distorsions du faisceau ultrasonore, appelées aberrations de phase et d'amplitude, qui dégradent la qualité de la focalisation. Les images obtenues chez certains patients sont tellement dégradées que leur interprétation est rendue difficile. Une correction peut être apportée à la réception des signaux par simple décalage temporel lorsque les aberrations sont de pures aberrations de phase.

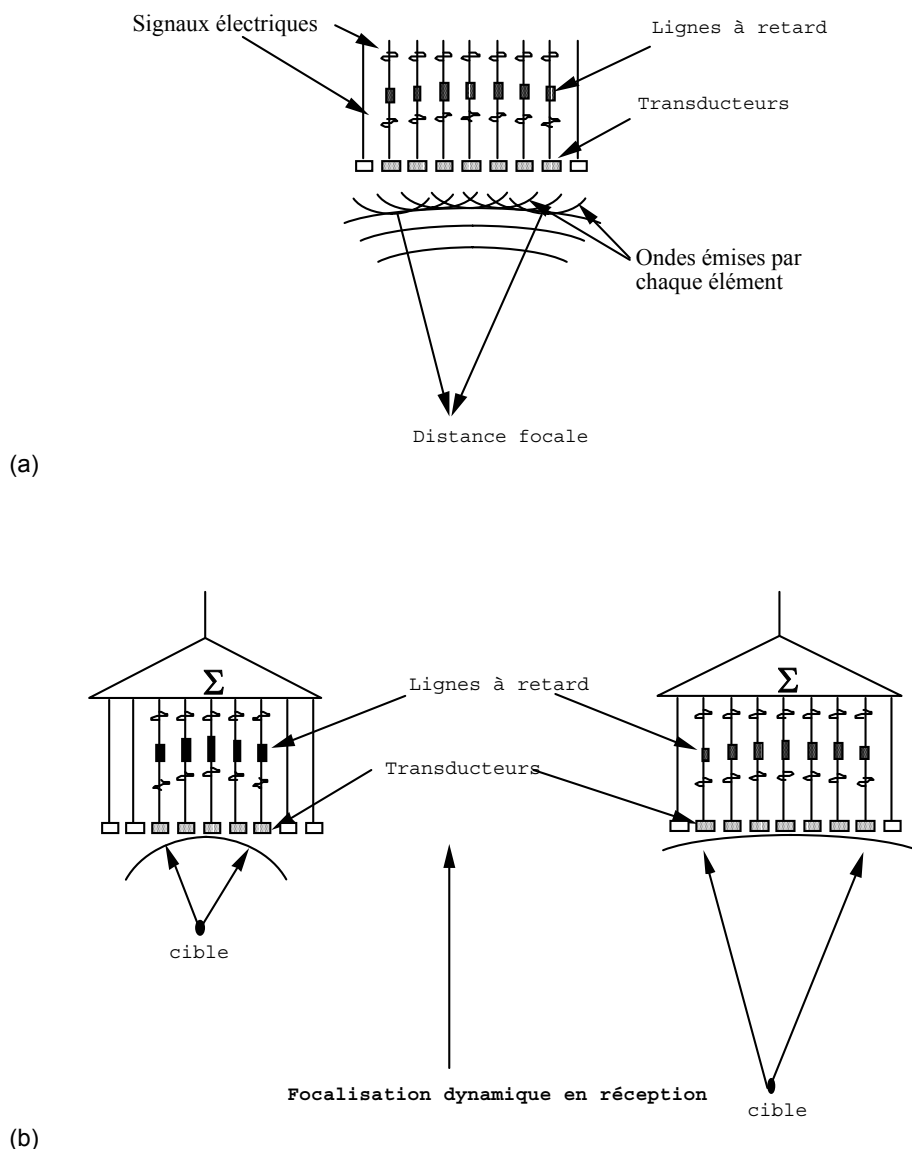


Figure 3 : Principe de la focalisation électronique par ligne à retard à l'aide d'une barrette de transducteurs. (a) Focalisation électronique à l'émission : un ensemble de retards (électroniques ou numériques) permet d'émettre une onde focalisée. (b) Focalisation électronique variable en réception : un ensemble de retards permet de remettre en phase tous les signaux issus d'une cible à la profondeur z . La loi de retard est ajustée à chaque instant pour focaliser à la profondeur d'où proviennent les échos reçus à cet instant.

L'inter-corrélation des signaux issus de deux éléments voisins de la barrette permet de déterminer le décalage temporel à appliquer pour corriger les aberrations introduites par le milieu et remettre les signaux en phase. Cependant, les aberrations pour des ondes qui se sont propagées dans le corps humain comportent des modifications de la phase et de l'amplitude, car chaque composante spectrale des signaux subit un

déphasage qui lui est propre. Les fluctuations d'absorption dans le milieu de propagation contribuent également au phénomène d'aberration d'onde. De simples décalages temporels des signaux sont insuffisants dans le cas le plus général pour corriger totalement les défauts de la focalisation. Ces défauts sont plus importants dans le cas de l'os, milieu fortement réfractant et très absorbant (vitesse des ondes de compression dans l'os cortical: 3500 m/s), et il est impossible d'obtenir une image de bonne qualité du cerveau à travers la boîte crânienne avec les procédés classiques de focalisation. Des techniques d'autofocalisation ont été proposées pour pallier cette difficulté. Le principe de ces nouvelles méthodes de focalisation dans les milieux hétérogènes repose sur l'idée qu'il faut, non pas transformer les signaux au moment de leur réception en les remettant en phase -comme on le fait pour la focalisation traditionnelle-, mais qu'il faut émettre des signaux différents sur chaque élément de l'ouverture. La forme des signaux à émettre dépend de l'hétérogénéité du milieu qu'ils vont traverser. Pour cela, une connaissance *a priori* sur l'hétérogénéité du milieu est nécessaire. La première des techniques d'autofocalisation proposée par Mathias Fink, le retournement temporel, est basée sur l'invariance de l'équation de propagation par renversement du temps. Cette propriété implique que si le champ de pression $p(r,t)$ est une solution de l'équation de propagation, alors $p(r,-t)$ en est également une solution². Le processus de focalisation par retournement temporel se fait en deux étapes (figure 4). Une première étape sert de *phase d'apprentissage* du milieu et permet de déterminer la forme des signaux qu'il faudra émettre pour obtenir une focalisation optimale à travers le milieu hétérogène. Pour cela, on effectue un premier tir ultrasonore à travers le milieu aberrateur. Le champ $p(r,t)$ réfléchi par une cible plongée dans le milieu se propage et se déforme à la traversée du milieu aberrateur. Il est enregistré et numérisé à l'aide d'un réseau de capteurs, puis les signaux retournés dans le temps sont ré-émis en direction de la cible. L'onde ré-émise, $p(r, -t)$, va suivre le chemin inverse en vertu de l'invariance de l'équation de propagation par renversement du temps et re-focalisera alors sur la cible. Le retournement temporel agit comme un filtre spatio-temporel adapté pour la propagation en optimisant l'énergie reçue au point focal. Dans le cas d'un milieu non dissipatif, et seulement dans ce cas, le retournement temporel est équivalent à un filtre spatio-temporel inverse exact de la propagation et permet une focalisation à travers le milieu aberrateur identique à la focalisation que l'on obtiendrait dans un milieu homogène non dissipatif. L'existence de processus dissipatifs dans le milieu brise l'invariance de l'équation de propagation par retournement temporel (l'absorption se traduisant dans l'équation par une dérivée temporelle d'ordre un) et met en

² L'équation de propagation reliant p et t est invariante par renversement du temps.

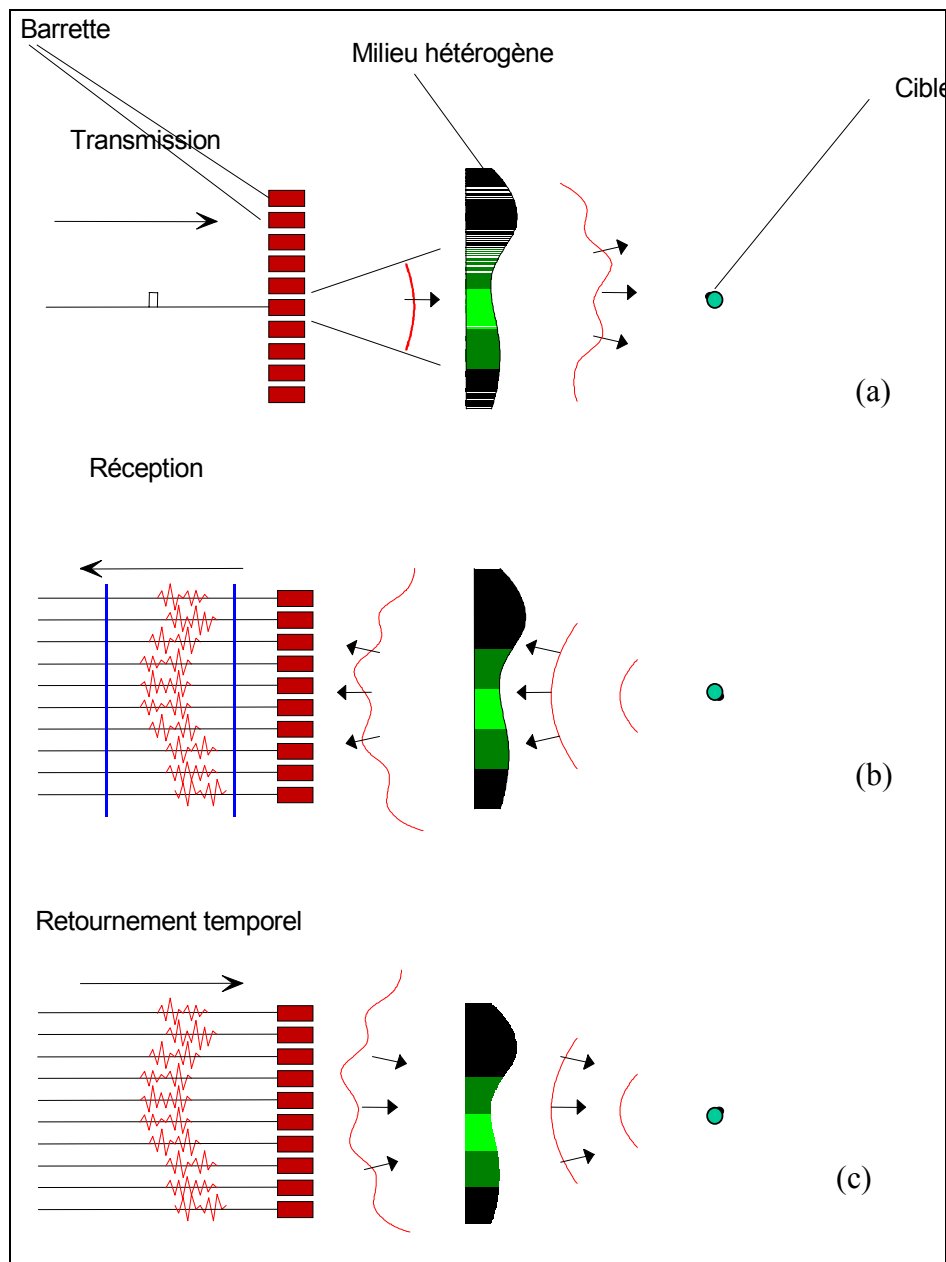


Figure 4 : Principe de la focalisation par retournement temporel. (a) et (b) : phase d'apprentissage du milieu. (c) phase de retournement temporel au cours de laquelle les signaux numérisés lors de la phase d'apprentissage sont ré-émis après retournement temporel. Si $S(t)$ est le signal reçu à la phase (b), le signal ré-émis à la phase (c) est $S(T-t)$.

échec la focalisation par retournement temporel. Une nouvelle technique, le filtre inverse spatio-temporel, permet d'obtenir une focalisation optimale dans tout milieu linéaire, qu'il soit dissipatif ou non. Cette technique repose sur la connaissance complète de l'opérateur de propagation entre la

barrette émettrice et un réseau de points de contrôle situés dans le plan focal. Il est alors possible de focaliser sur l'un des points de contrôle tout en minimisant l'énergie reçue sur tous les autres points de contrôle en choisissant les formes d'ondes appropriées à émettre par les éléments de la barrette. Cette phase de focalisation passe par l'inversion de l'opérateur de propagation que l'on a au préalable mesuré au cours de la première phase d'apprentissage du milieu.

Élastographie

L'élastographie ultrasonore est une nouvelle technique permettant de réaliser une imagerie quantitative des paramètres élastiques des tissus. Cette technique consiste à détecter la déformation des tissus lorsqu'ils sont soumis à une contrainte externe ou à des vibrations internes d'origine physiologique comme les contractions cardiaques. Elle vise ainsi à compléter par une mesure quantitative la palpation effectuée par le médecin pour dépister la présence d'un nodule dur. Ce geste médical simple est souvent le premier geste pratiqué dans le dépistage d'un certain nombre de cancers, par exemple les cancers du sein ou de la prostate. En réalité, la palpation est un geste qui permet une évaluation subjective de la rigidité des tissus, c'est-à-dire de leur module d'Young. L'élastographie met en œuvre des techniques d'inter-corrélation entre images échographiques successives pour suivre la déformation des tissus et former une cartographie du module de rigidité (module d'Young) tissulaire.

Rappelons que deux types de déformations élémentaires suffisent à expliquer une déformation générale d'un solide élastique: le changement de forme sans changement de volume (glissement ou cisaillement) et le changement de volume sans changement de forme (compression uniforme). Dans le cas d'un glissement pur ou d'une compression uniforme pure d'un solide élastique isotrope, le lien entre la contrainte et la déformation est déterminé respectivement par le module de cisaillement μ ou de compression uniforme K (loi de Hooke). Dans les tissus biologiques mous, le module de compression K (de l'ordre du GPa) est beaucoup plus élevé que le module de cisaillement μ (10^3 - 10^7 Pa). Par conséquent, le module d'Young qui s'exprime en fonction de K et μ

$$E = \frac{9K\mu}{3K + \mu} \approx 3\mu$$

est pour les tissus mous le reflet essentiellement du module de cisaillement. Le module d'Young est le seul qui varie dans des proportions importantes en présence d'un nodule dur. Dans les tissus mous, les ondes de compression qui se propagent aux fréquences ultrasonores avec la célérité

$$c_l = \sqrt{\frac{3K + 4\mu}{3\rho}} \approx \sqrt{\frac{K}{\rho}}$$

ne portent pas en elles d'information sur le module de cisaillement μ et ne permettent donc pas d'accéder à la mesure du module d'Young. Seules les ondes élastiques de cisaillement qui se propagent avec la célérité

$$c_t = \sqrt{\frac{\mu}{\rho}}$$

peuvent nous renseigner sur la rigidité (le module d'Young) des tissus mous. Or, dans les tissus mous biologiques, aux fréquences ultrasonores, les ondes de cisaillement sont extrêmement rapidement atténuées et notre corps se comporte alors comme un fluide. Les ondes de cisaillement ne se propagent dans les tissus mous qu'aux très basses fréquences. À ces fréquences (typiquement quelques dizaines de Hz), le corps se comporte comme un solide élastique et les deux types d'ondes peuvent se propager. Afin de remplacer la palpation manuelle par une technique de « palpation quantitative », plusieurs techniques ont vu le jour associant une sollicitation mécanique basse fréquence à un système ultrasonore de déplacement des tissus. Nous décrivons ici l'une de ces techniques connues sous le terme d'élastographie impulsienne.

L'élastographie impulsienne est un procédé d'imagerie utilisant les ondes de cisaillement basses fréquences pour caractériser un milieu viscoélastique diffusant qui contient des particules réfléchissant les ondes ultrasonores de compression. On génère une onde de cisaillement en appliquant au milieu viscoélastique une excitation ayant la forme d'une impulsion basse fréquence (quelques dizaines ou centaines de Hz) et on observe au moyen d'une onde ultrasonore de compression (quelques MHz) le déplacement du milieu viscoélastique sous l'effet de l'onde de cisaillement. Les ondes de cisaillement dans les tissus se propageant à la vitesse de quelques m/s, une cadence de plusieurs milliers d'images par seconde est nécessaire pour suivre l'évolution des déplacements induits par l'onde de cisaillement à l'échelle du mm. On observe la propagation de l'onde de cisaillement simultanément en une multitude de points dans le milieu en émettant une succession de tirs ultrasonores de compression à une cadence élevée (typiquement 5000 tirs par seconde). On détecte en temps réel les échos générés par les particules réfléchissantes du milieu à chaque tir ultrasonore, l'ensemble de ces échos correspondant à des images échographiques instantanées successives du milieu observé (c'est-à-dire à des images successives du milieu au cours de la propagation de l'onde de cisaillement). Comme le milieu est ébranlé au passage de l'onde

de cisaillement, les diffuseurs du milieu sont eux-mêmes ébranlés et le temps de vol des échos varie d'une image à l'autre. Le signal échographique ultrasonore est échantillonné à haute fréquence en temps réel puis mémorisé. Il y a ensuite une étape de traitement d'image (ou de signal) en différé au cours de laquelle on traite les images obtenues par inter-corrélation entre images successives, pour déterminer en chaque point du milieu (ou du champ d'observation) la variation du temps de vol des échos, reflet du mouvement du milieu (sous l'effet du passage de l'onde de cisaillement). Au cours du processus d'inter-corrélation, le maximum de la fonction d'inter-corrélation est recherché afin de déterminer le déplacement subi par chaque diffuseur donnant lieu à un écho ultrasonore. On obtient à la suite du traitement une succession d'images montrant l'évolution de la déformation du milieu sous l'effet de la propagation de l'onde de cisaillement. On peut visualiser cette succession d'images sous forme d'un film ralenti où la valeur instantanée de la déformation en chaque point du milieu est codée sous forme de niveau de gris, qui peut permettre, dans les applications médicales, de repérer directement des zones cancéreuses dures: la propagation de l'onde de cisaillement s'y déroule en effet très différemment des zones voisines. Les déplacements engendrés dans une zone dure sont en effet beaucoup plus faibles que ceux engendrés dans les tissus sains environnants. De plus, l'onde de cisaillement est fortement diffractée lorsqu'elle atteint une zone dure. Ce repérage s'effectue donc beaucoup plus facilement que par simple observation échographique ultrasonore, puisque la propagation des ondes de cisaillement est fonction du module de cisaillement du milieu, lui-même très variable entre tissus sains et tissu cancéreux : le module de cisaillement varie typiquement dans un rapport de 1 à 30 entre une zone saine et une zone cancéreuse, alors que le module de compression qui régit la propagation des ondes ultrasonores de compression utilisées par l'échographie ultrasonore varie seulement de l'ordre de 5% entre un tissu sain et un tissu cancéreux. À partir de l'évolution de la déformation du milieu au cours du temps dans le champ d'observation, on peut, par un processus classique d'inversion, remonter à la valeur locale de la vitesse de l'onde de cisaillement et donc au module d'Young. L'élastographie pourrait ainsi compléter l'examen échographique classique en améliorant la précision du dépistage ou du diagnostic des tumeurs du sein ou de la prostate (figure 5).

Densitométrie osseuse ultrasonore

L'os réfléchit et absorbe fortement les ultrasons. Pour ces raisons, aucune des méthodes échographiques développées pour les tissus mous n'est adaptée à l'examen du squelette. Pourtant, en adaptant les techniques de mesures, il est possible de mesurer les propriétés acoustiques de l'os, telles que la vitesse et l'atténuation des ultrasons.

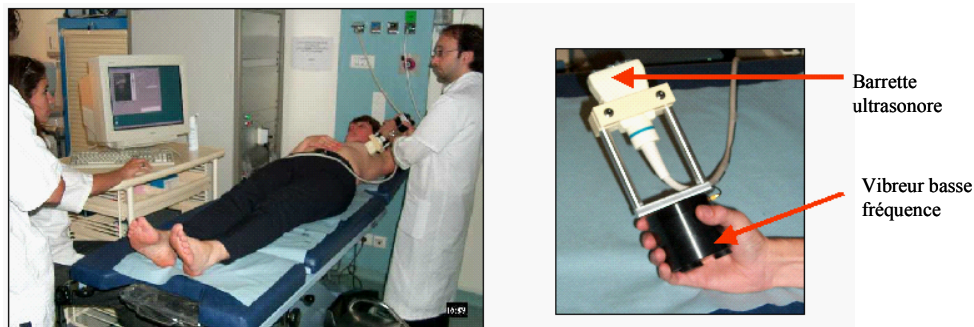


Figure 5 : Exemple de prototype de sonde réalisée au LOA, utilisée pour le dépistage du cancer du sein par élastographie. La sonde échographique conventionnelle est montée sur un système vibrant à basse fréquence pour générer une onde de cisaillement dans les tissus. L'imagerie d'élasticité des tissus peut être réalisé en même temps qu'un examen échographique classique.

Ces propriétés peuvent se révéler très intéressantes car elles sont reliées à la densité et à la résistance osseuses. En particulier, les ondes se propagent moins vite, mais elles sont aussi moins atténuées lorsque l'os est peu dense. C'est ce que l'on observe chez des sujets atteints d'ostéoporose, pour lesquels les os sont devenus si poreux qu'ils finissent par se fracturer spontanément. Les paramètres acoustiques tels que l'atténuation ou la vitesse des ultrasons sont utilisés pour la prédiction du risque de fracture. La densitométrie osseuse ultrasonore regroupe l'ensemble des techniques ultrasonores utilisées pour évaluer la résistance du squelette et prédire le risque de fracture.

Le principe de mesure des propriétés acoustiques de l'os repose sur la transmission d'une onde ultrasonore de basse fréquence (de 250 kHz à 1,25 MHz selon la technique et le site de mesure) à travers l'os ou le long de sa surface corticale. Il suffit pour cela de disposer au moins deux capteurs (un émetteur et un récepteur) soit de part et d'autre du site squelettique mesuré (transmission transverse), soit le long de sa surface (transmission axiale). Il s'agit donc d'une mesure en transmission, ce qui différencie la densitométrie ultrasonore osseuse des autres applications diagnostiques ultrasonores qui fonctionnent en réflexion selon le principe de l'échographie.

Résumons le principe de la mesure par transmission transverse. On parle de transmission transverse, car le signal traverse l'os de part en part. Les mesures sont effectuées au niveau de sites squelettiques périphériques facilement accessibles tels que le talon ou les phalanges. L'atténuation en fonction de la fréquence est obtenue par une méthode de substitution qui procède en deux étapes et consiste à comparer le spectre du signal transmis dans l'os au spectre d'un signal de référence acquis à travers un milieu de référence d'atténuation connue. Le milieu de référence est en général de l'eau dont l'atténuation aux fréquences utiles (< 1 MHz)

peut être considérée comme nulle. Les signaux sont à large bande et leur spectre est calculé par transformée de Fourier. L'atténuation en fonction de la fréquence s'exprime simplement comme le rapport des spectres d'amplitude. L'atténuation de l'os varie quasi linéairement en fonction de la fréquence. Il suffit donc de mesurer la pente de la droite de régression de l'atténuation en fonction de la fréquence à partir de la droite de régression obtenue par la méthode des moindres carrés. La vitesse de propagation dans l'os s'exprime simplement à partir de la différence des temps de vol entre les signaux de référence et les signaux transmis dans l'os. Une autre approche consiste à estimer la vitesse de phase en fonction de la fréquence à partir de la phase du rapport des spectres et à utiliser la valeur moyenne de la vitesse dans la bande passante utile. Une image des paramètres ultrasonores de la structure examinée est obtenue en mesurant localement les paramètres lors du balayage de la structure par le faisceau ultrasonore (figure 6).

La technique de transmission axiale exploite le phénomène de réfraction à l'angle critique qui se produit lorsqu'une onde incidente passe d'un milieu de vitesse de propagation c_1 à un milieu où la vitesse de propagation est c_2 , avec $c_2 > c_1$. C'est le cas lorsqu'une onde est transmise dans l'os ($c_2 \sim 4000$ m/s) à partir d'un émetteur placé à la surface de la peau

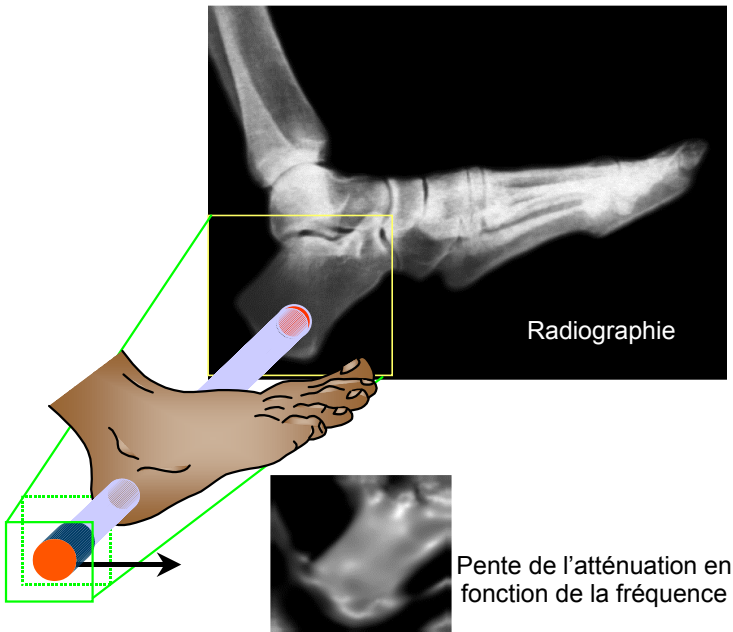


Figure 6 : Illustration de l'imagerie osseuse par transmission transverse. L'image du talon obtenue à partir de la mesure de la pente de la droite d'atténuation en fonction de la fréquence est ici comparée à la radiographie standard à rayons X.

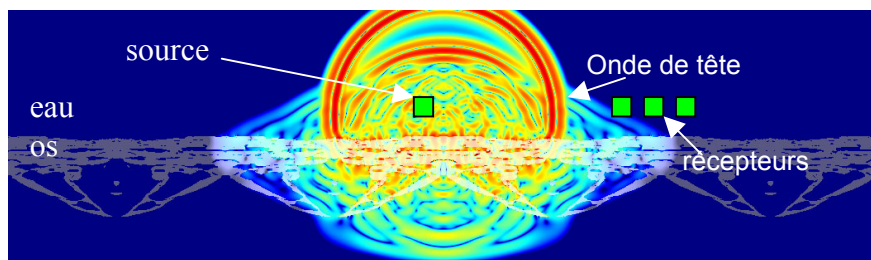
($c_1 \sim 1500$ m/s). Une série de récepteurs est disposée à la surface de la peau et enregistre le passage de l'onde de tête (également appelée onde latérale) qui est rayonnée par l'onde réfractée excitée à l'angle critique longitudinal

$$\sin \theta_c = \frac{c_1}{c_2}$$

se propageant dans l'os le long de la surface de celui-ci à la vitesse c_2 . La technique repose sur l'estimation de la vitesse de l'onde de tête qui est à l'origine du premier signal détecté au niveau des récepteurs (figure 7). Tant que l'épaisseur de l'os est plus grande que la longueur d'onde des ondes de compression dans l'os, l'onde latérale reste bien le premier signal détecté. Sa vitesse de propagation c_2 permet de caractériser l'état osseux, notamment la valeur de la vitesse diminue lorsque la densité de l'os diminue (ou lorsque la porosité de l'os augmente). Dans le cas où l'épaisseur de l'os est voisine de la longueur d'onde, des phénomènes liés à l'existence d'ondes guidées peuvent apparaître, de telles ondes pouvant alors interférer avec l'onde de tête. Dans ce cas, la vitesse du premier signal dépend non seulement de c_2 mais aussi de l'épaisseur de l'os. L'atout d'un tel dispositif est de permettre une évaluation multi-sites et en particulier l'examen de sites squelettiques difficile d'accès pour les mesures par transmission transverse.



(a)



(b)

Figure 7 : (a) Prototype de sonde pour la mesure de la vitesse de propagation des ultrasons le long de l'os cortical (radius) par transmission axiale. (b) Simulation numérique par différences finies du phénomène de propagation de l'onde de tête dans le cas d'une source ponctuelle émettrice placée dans l'eau au-dessus d'un échantillon d'os cortical.

L'ostéoporose est une maladie diffuse du squelette caractérisée par une masse osseuse basse et des altérations de la micro-architecture du tissu osseux conduisant à une augmentation de la fragilité osseuse et de la susceptibilité aux fractures. Les méthodes de référence reposent sur l'absorption de rayons X par le tissu osseux. D'introduction récente, les méthodes ultrasonores voient leur place au sein de l'arsenal des techniques d'évaluation osseuse croître régulièrement, et ce pour plusieurs raisons : d'une part parce qu'il s'agit d'une technique au coût modéré, sans irradiation et aux résultats cliniques indiscutablement prometteurs, d'autre part parce que les ultrasons, en tant qu'ondes élastiques, ont le potentiel d'apporter une information précieuse sur des facteurs osseux, tels que sa densité, sa micro-architecture ou l'élasticité du tissu, qui déterminent sa résistance. L'examen quantitatif ultrasonore, à l'instar de la densitométrie à rayons X, se prête bien au dépistage à l'échelle d'une population des sujets à risque de fracture comme aux mesures répétées pour le suivi des sujets au cours du temps.

Conclusion

Le domaine des applications biomédicales des ultrasons est bien établi. La technique est largement utilisée dans de nombreuses spécialités et ne cessent de s'enrichir grâce aux progrès technologiques rapides, en particulier du côté des réseaux de capteurs multi-éléments complètement programmables. Les nouvelles méthodes de focalisation à travers les milieux hétérogènes ouvrent des perspectives pour l'imagerie et la thérapie du cerveau à travers la paroi crânienne. Les nouvelles techniques diagnostiques d'élastographie et de densitométrie ultrasonore en sont encore à leurs balbutiements. Des expériences récentes ont démontré la possibilité de générer des ondes de cisaillement en profondeur à partir de la pression de radiation. L'élucidation des mécanismes d'interaction des ondes ultrasonores avec la structure osseuse devrait permettre une évaluation plus complète de la microarchitecture osseuse et une meilleure évaluation du risque fracturaire.

Bibliographie

1. F.S.Foster, C.J. Pavlin, K.A. Harasiewicz D.A. Christopher and D.H. Turnbull," Advances in ultrasound biomicroscopy," *Ultrasound Med Biol*, vol. 26, pp. 1-27, 2000.
2. M. Berson, J. M. Grégoire, F. Gens, J. Rateau, F. Jamet, L. Vaillant, F. Tranquart and L. Pourcelot, "High frequency (20 MHz) ultrasonic devices: advantages and applications," *European Journal of Ultrasound*, vol. 10, pp. 53-63, 1999.
3. C. J. Pavlin and F. S. Foster, *Ultrasound biomicroscopy of the eye*. New York: Springer-Verlag, 1995.
4. M. Fink," Time reversal of utraasonics fields-Part I : basic principles," *IEEE Ultrason Ferroelec Freq Contr*, vol. 39, pp. 555-566, 1992.

5. F. Wu, J.-L. Thomas, M. Fink, "Time reversal of ultrasonics fields-Part II : experimental results," *IEEE Ultrason Ferroelec Freq Contr*, vol. 39, pp. 566-578, 1992.
6. D. Cassereau, M. Fink, "Time reversal of ultrasonics fields-Part III : theory of the closed time-reversal cavity," *IEEE Ultrason Ferroelec Freq Contr*, vol. 39, pp. 555-566, 1992.
7. M. Fink « Time-reversed acoustics » *Scientific American*, p.67-73 Novembre 1999.
8. M. Tanter, J.-L. Thomas, M. Fink, "Time reversal and the inverse filter, " *J Acoust Soc Am*, vol. 108, pp. 223-234, 2000.
9. J.-F. Aubry, M. Tanter, J. Gerber, J.-L. Thomas, M. Fink, "Optimal focusing by spatio-temporal inverse filter. I, " *J Acoust Soc Am*, vol. 110, pp. 37-47, 2001.
10. J.-F. Aubry, M. Tanter, J. Gerber, J.-L. Thomas, M. Fink, "Optimal focusing by spatio-temporal inverse filter. II, " *J Acoust Soc Am*, vol. 110, pp. 48-58, 2001.
11. A.P. Sarvazyan, A.R. Skovoroda, S.Y. Emelianov, J.B. Fowlkes, J.G. Pipe, R.S. Adler, R.B. Buxton, P.L. Carson, " Biophysical bases of elasticity imaging, " in *Acoustical Imaging*, vol 21, Edited by J.P. Jones, Plenum Press, New York, pp. 223-240, 1995.
12. L. Sandrin, S. Cathelin, M. Tanter, X. Hennequin, M. Fink, " Time-resolved pulsed elastography with ultrasfast ultrasonic imaging, " *Ultrasonic Imaging*, vol. 21, pp. 259-272, 1999.
13. L. Sandrin, M. Tanter, S. Catheline, M. Fink, " Shear modulus imaging with 2D transient elastography, " *IEEE Ultrason Ferroelec Freq Contr*, vol. 49, pp. 426-435, 2002.
14. L. Sandrin, M. Tanter, J.-L. Gennisson, S. Catheline, M. Fink, " Shear elasticity probe for soft tissues with 1-D transient elastography, " *IEEE Ultrason Ferroelec Freq Contr*, vol. 49, pp. 436-446, 2002.
15. *Quantitative ultrasound : assessment of osteoporosis and bone status.* Edited by C.F. Njeh, D. Hans, T. Fuerst, C.C. Glüer, H.K. Genant, Martin Dunitz, London, 1999.
16. C. Roux, B. Fournier, P. Laugier, C. Chappard, S. Kolta, M. Dougados, G. Berger, "Broadband ultrasonic attenuation imaging: a new imaging method in osteoporosis, " *J Bone Miner Res*, vol. 11, pp. 1112-1118, 1996.
17. S. Chaffai, F. Peyrin, S. Nuzzo, R. Porcher, G. Berger, P. Laugier, "Ultrasonic Characterization of human cancellous bone using transmission and backscatter measurements : relationships to density and micro-structure, " *Bone*, vol. 30, pp.229-237, 2002.
18. E. Camus, M. Talmant, G. Berger and P. Laugier, "Analysis of the axial transmission technique for the assessment of skeletal status," *J Acoust Soc Am*, vol. 108, pp. 3058-3065, 2000.
19. E. Bossy, M. Talmant and P. Laugier, "2D simulation of the axial transmission technique on a cortical bone plate," *J Acoust Soc Am*, vol. 112, pp. 297-307, 2002.

Imagerie par laser à impulsions ultracourtes : Pourquoi deux photons valent mieux qu'un ?

François AMBLARD

Laboratoire de Physico-Chimie, Institut Curie, Paris

mél : francois.amblard@curie.fr

Introduction

L'imagerie optique est utilisée pour le diagnostic et la recherche en biologie, comme outil privilégié d'accès à la structure intime des tissus et des cellules avec la résolution micrométrique. Quelles que soient les modalités employées, les informations fournies par ces images proviennent des propriétés physiques des tissus vis-à-vis de la lumière, touchant à sa propagation – absorption, polarisation, biréfringence – ou à des propriétés de photo-émission induite – fluorescence, phosphorescence.

Dans ce champ méthodologique, les lasers ont apporté de nouvelles possibilités d'imagerie comme l'imagerie confocale, et les applications destinées initialement à la recherche en biologie sont progressivement mises au service de la pratique médicale. En particulier, l'optique non-linéaire et les lasers à impulsions ultracourtes – durant typiquement 10^{-13} s – ont été introduits en microscopie en 1978 [Sheppard 1978, Denk 1990], et ont apporté des innovations radicalement nouvelles : l'intensité considérable des impulsions produit des effets non-linéaires dont les conséquences sont particulièrement utiles en biologie [Diaspro 2002]. L'imagerie que ces effets permettent est dite « non-linéaire » ou, de façon équivalente, « imagerie multiphotonique ». Il devient possible de « voir » dans la profondeur d'un tissu, et de pratiquer des « biopsies optiques » à la façon d'une tomographie, ce qui est impossible en optique linéaire.

Cet article vise principalement à présenter les bases physiques essentielles de l'imagerie non-linéaire et les ordres de grandeur importants. Nous mentionnerons de façon succincte les conditions de mise en œuvre, les applications actuelles en biologie et les développements en direction de la médecine.

I - Le paradoxe de l'imagerie en profondeur et le bénéfice de la non-linéarité optique

1. Voir dans un objet épais : conjugaison et exigences paradoxales

La formation d'une image, illustrée sur la figure 1, nécessite un dispositif (L) qui conjugue chaque point du plan objet (o) à un point du plan

image (i). Par définition de la conjugaison optique, tout rayon lumineux issu d'un point objet donné passera par son point image, dans la limite des diverses aberrations du système optique employé. L'information transportée par cette conjugaison, contenu même de l'image, repose soit sur l'émission de lumière produite directement par les points du plan (o) comme c'est le cas pour la luminescence, soit sur la modification de la couleur, de l'intensité, de la phase, ou de la direction de propagation de la lumière d'une source servant à exciter l'objet. Dans le second cas, qui recouvre l'essentiel des applications de l'imagerie optique et de la microscopie, on trouve les techniques basées sur la fluorescence, le contraste de phase ou d'absorption, le contraste de réflectivité, etc. autant de méthodes pour lesquelles une source de lumière (s) est nécessaire pour éclairer l'échantillon. Dans le cas simple d'un objet plan, le seul problème posé par la source est qu'elle doit être assez intense pour que l'image soit bien « visible » par le détecteur situé dans le plan (i) ou dans un autre plan conjugué à celui-ci.

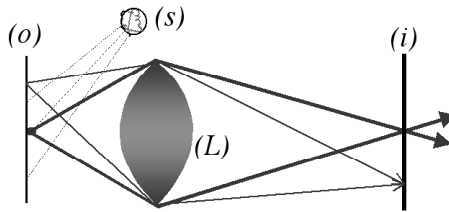


Figure 1 : Illustration de la notion de conjugaison optique à la base des dispositifs d'imagerie. Une source (s) éclaire un plan objet (o) conjugué point par point avec un plan image (i) via un système optique (L). La résolution latérale de ce dispositif est égale à $0,6\lambda/\text{ON}$, où λ est la longueur d'onde de la lumière employée et ON l'ouverture numérique du système optique. L'ouverture ON est donnée par $n\sin(\theta)$, où θ est le demi-angle au sommet des rayons issus de l'objet, et n l'indice de réfraction du milieu de propagation. La profondeur de champ vaut $\lambda n/\text{ON}^2$.

Cependant, le cas le plus général et surtout le plus intéressant en biologie est celui d'échantillons épais. La notion d'épaisseur intervient pour deux raisons au moins : la conjugaison d'une part, et la propagation des rayons lumineux dans l'objet. Si l'on considère en effet un objet étendu, dans la direction perpendiculaire aux plans (o) et (i), cette extension affectera la conjugaison si elle dépasse la profondeur de champ du dispositif (L). Dans les applications de microscopie qui nous concernent, la profondeur de champ est relativement faible, de l'ordre de quelques microns, et nombre d'échantillons intéressants sont donc épais dans ce sens-là. Considérons donc un objet épais, et cherchons à obtenir l'image d'un plan de mise au point (o) plus mince que cet échantillon et « enfoui » dans son épaisseur [figure 2]. Moyennant les corrections liées aux sauts d'indice suivant les règles de l'optique géométrique, il est possible de construire à nouveau un plan image (i) conjugué du plan (o) enfoui. Les

rayons noirs illustrent cette conjugaison. Cependant, si l'échantillon est constitué d'une matière homogène, alors les processus qui transforment la lumière de la source (s) en réponse lumineuse utile pour la construction de l'image n'ont aucune raison d'être localisés dans le plan de mise au point (o), et ont également lieu à la surface de l'objet par exemple. On a donc, outre les rayons provenant de points du plan (o) enfoui, des rayons provenant de points de la surface (rayons gris), et plus généralement de tous les plans excités. L'image nette formée dans le plan (i) par conjugaison avec le plan (o) sera donc brouillée par une composante floue apportée par les rayons lumineux provenant de points hors du plan de mise au point.

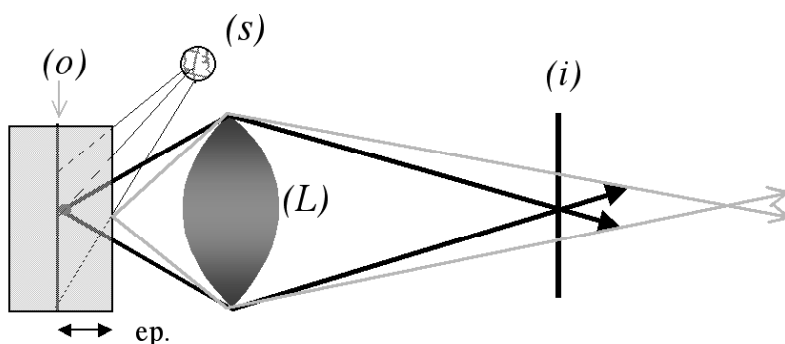


Figure 2 : Illustrations du paradoxe de l'imagerie des objets épais. L'image d'un plan enfoui dans un objet épais est formée par les rayons lumineux (noirs) produits par ce plan en réponse à l'excitation lumineuse apportée par une source (s). Une image nette sera formée dans le plan (i) si celui-ci est optiquement conjugué au plan (o) via le système optique (L). Si le milieu de l'échantillon répond de façon homogène à l'excitation de la source, alors l'image dans le plan (i) sera « brouillée » par les rayons lumineux (gris) correspondant à la réponse de points ne se trouvant pas dans le plan (o) de mise au point.

Imager un plan objet (o) enfoui dans un échantillon épais requiert donc idéalement deux propriétés contradictoires : la lumière de la source (s) doit interagir avec ce plan, et les plans autres que ce plan objet doivent être transparents à cette lumière. Si l'échantillon est de constitution homogène, ces deux exigences sont naturellement incompatibles. Ces exigences paradoxales de l'imagerie des objets épais ont conduit à plusieurs solutions classiques :

a) La première solution est celle sur laquelle repose la microscopie confocale [Pawley 1995]. L'idée centrale est de sélectionner la lumière provenant du plan de mise en point en plaçant un trou d'aiguille dans le plan conjugué. On imagine à l'aide de la figure 2, qu'un tel trou, placé au point de convergence des rayons noirs, éliminera l'essentiel des rayons indésirables (rayons gris). Ceci ne fonctionne cependant que point par point. D'où le principe de la microscopie confocale : la lumière d'excitation produite par un laser est focalisée en un point qui balaye l'échantillon au cours du temps, et l'on crée par conjugaison optique un foyer confocal fixe

où est placé un trou d'aiguille qui ne laissera passer à chaque instant que la réponse provenant du point focal.

b) La seconde solution est la microscopie par déconvolution [Carrington 2002]. On exploite ici l'idée que, si le système optique (L) est connu, alors on peut calculer la distribution, dans le plan image, de l'intensité lumineuse provenant d'une source ponctuelle, où qu'elle soit dans l'échantillon. Inversement, il est possible par le calcul de remonter de la distribution de cette intensité dans le plan (i) à la distribution des sources ponctuelles qui en sont la cause. Cette approche est dite de déconvolution, car il s'agit d'inverser la relation mathématique fondamentale de l'imagerie : l'image par un système optique est le produit convolution de la distribution des sources par la fonction réponse ponctuelle du système. Grâce à la puissance de calcul accrue des ordinateurs courants, cette approche par déconvolution est de plus en plus pratiquée en biologie.

Notons que ces solutions classiques répondent chacune à leur manière au paradoxe, soit en bloquant la lumière produite hors du plan de mise au point, soit en calculant d'où elle provient. La solution offerte par l'imagerie non-linéaire décrite ci-dessous est de ce point de vue radicalement différente.

2. L'excitation non-linéaire est localisée

Pour les besoins de la démonstration (figure 3) nous considérons un faisceau lumineux collimaté issu d'un laser, de puissance P_0 dispensée sur une surface circulaire S_0 , qui se réduit dans la direction z par focalisation à travers une lentille (L); la surface $S(z)$ atteint au foyer $z = 0$ son minimum limité par la diffraction. En amont de la lentille, l'intensité I_0 et la surface S_0 sont reliées par l'équation $P_0 = I_0.S_0$. On suppose que le milieu excitable est suffisamment dilué pour rendre négligeable la perte d'énergie du faisceau résultant de l'interaction avec le milieu ; la conservation de la puissance s'écrit donc $I(z).S(z) = P_0 = I_0.S_0$. L'intensité I est le produit du flux de photon (Φ) par l'énergie individuelle des photons considérés. On suppose que l'intensité $I(z)$ est distribuée uniformément sur l'étendue de la section $S(z)$. Cette hypothèse n'est pas réaliste, mais elle est commode et n'invalide pas le résultat par rapport à ce qu'on obtiendrait avec une distribution d'intensité plus raisonnable.

Suivant une hypothèse très naturelle de réponse linéaire, on peut considérer localement que la densité F de la réponse du milieu –nombre de photons par unité de volume et par unité de temps– est proportionnelle au flux d'excitation : $F(z) = \alpha.I(z)$. Alors la réponse $R(z)$, intégrée sur la surface $S(z)$, vaut $R(z) = \alpha.P_0$. Autrement dit le nombre de photons $S(z).dz$ produits par unité de temps est le même pour chaque tranche perpendiculaire à

l'axe. La réponse n'est pas localisée, mais seulement plus concentrée autour du point focal.

En revanche, l'hypothèse d'une réponse non-linéaire, par exemple quadratique avec $\mathbf{F}(z) = \beta \cdot \mathbf{I}^2(z)$, conduit à $\mathbf{R}(z) = \beta \cdot P_0^2 / S(z)$. La réponse est donc maintenant localisée, au sens où elle est plus élevée dans les sections voisines du point focal. Plus précisément, dans une géométrie très courante, on peut voir le faisceau lumineux comme une enveloppe conique, où $S(z)$ est proportionnel à z^2 , sauf au voisinage de la singularité au point focal $z = 0$. Au-delà de ce voisinage, la réponse $\mathbf{R}(z)$ est donc proportionnelle à $1/z^2$, et l'intégrale de cette réponse sur des volumes emboîtés de taille croissante autour du volume focal est convergente. C'est dans ce sens de convergence que nous entendons la notion de localisation. Le résultat général est le suivant : si un matériau répond non-linéairement à une excitation lumineuse de flux \mathbf{I} par une réponse localement donnée par $\mathbf{F} = \beta \cdot \mathbf{I}^{1+\gamma}$, avec $\gamma > 0$, alors la réponse à un faisceau lumineux convergent est intrinsèquement localisée au voisinage du point focal. Cette conséquence de la non-linéarité est très générale, car aucune hypothèse particulière n'a été faite sur la nature de la réponse. Le volume caractéristique de localisation est de l'ordre de $(\lambda/\text{ON})^3$. Quand l'ouverture numérique est grande (voisine de 1), le volume de localisation est typiquement $1 \mu\text{m}^3$.

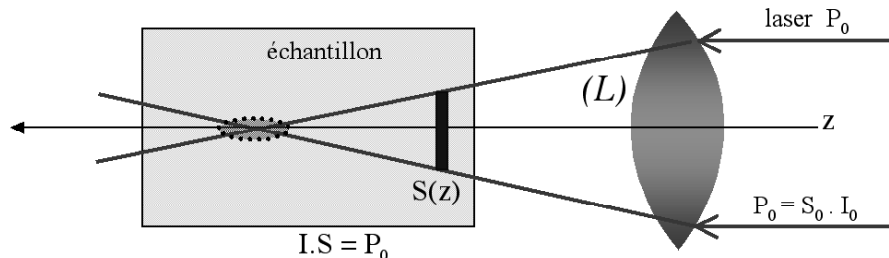


Figure 3 : Géométrie d'un faisceau convergent et localisation des interactions non-linéaires. Un faisceau laser de puissance P_0 et de section S_0 est focalisé suivant l'axe z par une lentille (L) dans un milieu homogène jusqu'à un point focal $z = 0$. On suppose que la puissance n'est pas atténuée par le milieu et que l'intensité \mathbf{I} croît donc suivant $\mathbf{I} \cdot S = P_0$. La réponse non-linéaire du milieu est localisée autour du point focal dans un volume de l'ordre de $(\lambda/\text{ON})^3$.

3. Réponse non-linéaire d'une molécule : modèle simple d'oscillateur

La propriété de localisation décrite plus haut s'exprime simplement en termes mathématiques. Quelle est sa signification physique ? Nous voulons illustrer qualitativement comment peut apparaître une réponse optique non-linéaire. Pour cela, rappelons que la lumière transporte un champ électrique perpendiculaire à sa direction de propagation et qu'une

lumière monochromatique correspond donc à un champ sinusoïdal de la forme $E_0.e^{i\omega t}$. Une molécule placée dans un tel champ va acquérir un dipôle induit habituellement écrit $p^* = \alpha \varepsilon E$, avec la polarisabilité α et la permittivité ε . Une représentation courante de la polarisation est celle de deux charges opposées que le champ électrique sépare, en opposition à une force de rappel électrostatique. Cette force de rappel moléculaire ne dérive d'un potentiel harmonique qu'en première approximation. Une forme plus générale unidimensionnelle du potentiel est $V(x)=a.x^2+b.x^3+c.x^4$, qui permet de rendre compte simplement d'une dissymétrie ou d'effets de saturation par exemple. Nous illustrons cela par une analogie mécanique. La figure 4 montre un champ électrique optique de pulsation ω , et un dipôle induit p^* non sinusoïdal dont la réponse manifeste un défaut de saturation, à la façon d'un ressort dont la raideur augmenterait avec la déformation. La décomposition de la réponse p^* montre qu'elle est proportionnelle à l'expression $e^{i\omega t} + 0,1.e^{i3\omega t}$. Ceci revient à écrire le dipôle induit sous la forme d'une série de puissances du champ électrique.

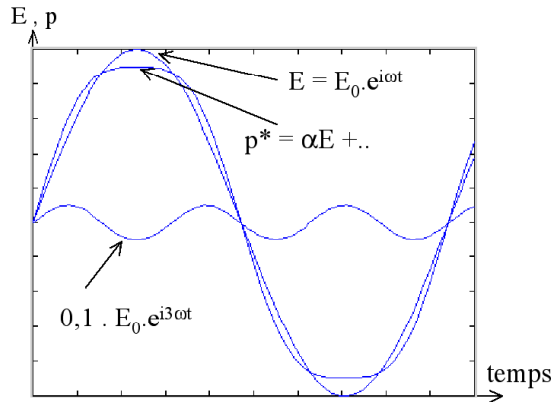


Figure 4 : Décomposition harmonique de la réponse non-linéaire d'un oscillateur simple (dipôle électrostatique induit). Le comportement saturant de la réponse correspond à une décomposition $e^{i\omega t} + 0,1 e^{i3\omega t}$ qui met en lumière l'apparition d'un harmonique 3ω correspondant à la 3^{ème} puissance du champ excitant.

L'apparition de réponses optiques non-linéaires est donc directement liée à des notions simples connues dans le domaine des ressorts mécaniques. L'apparition de non-linéarités exige une excitation suffisamment forte. En revenant à l'expression de la réponse optique suivant la notation employée plus haut, si l'on connaît les coefficients α, β, γ tels que $F = \alpha.I + \beta.I^2 + \gamma.I^3 + \dots$, on peut déduire l'intensité minimale pour que les termes non-linéaires dominent celui du premier ordre. La généralité du formalisme de l'oscillateur harmonique dans les domaines mécanique, optique, acoustique, ou électrique s'étend ici à celui de la production d'harmoniques, bien connue en acoustique, mais aussi en optique par la notion d'harmoniques optiques.

II - Interactions et microscopie non-linéaires : deux photons valent mieux qu'un

1. Au-delà de la limite familière de l'optique linéaire : notions de section efficace

Nous venons de voir que la production d'interactions non-linéaires en optique est liée au fait que la réponse linéaire n'est qu'une approximation, valable quand la lumière porte un champ électrique suffisamment faible. Pratiquement cette limite de champ faible est très élevée, au point qu'elle n'a pu être explorée qu'avec l'avènement des sources laser. L'optique courante est donc l'optique linéaire.

Comment estimer les intensités lumineuses typiques nécessaires pour l'obtention d'effets non-linéaires ? Pour préciser les idées nous allons raisonner d'abord sur l'excitation d'une transition électronique d'une molécule de fluorophore de son niveau fondamental vers son premier état électronique excité.

La description de l'excitation optique en termes d'oscillateurs n'exprime pas la vision quantique du processus de transition électronique (figure 5). Rappelons que cette transition, d'après la mécanique quantique, peut avoir lieu par absorption d'un photon d'énergie $h\nu_0 = \hbar\omega_0/2\pi$, à la condition que cette énergie égale l'énergie qui sépare les deux états : $h\nu_0 = \Delta E_0$; ω_0 est la pulsation du champ électrique, ν la fréquence et h la constante de Planck. Une des idées fondatrices dans ce domaine revient à Maria Göppert-Mayer, qui avait proposé que l'énergie de cette transition puisse être apportée sous forme de deux photons, pour autant que la somme de leurs énergies égale $\Delta E_0 = h\nu_0/2 + h\nu_0/2$ [Göppert-Mayer 1931]. Cette idée s'étend au cas de plusieurs photons.

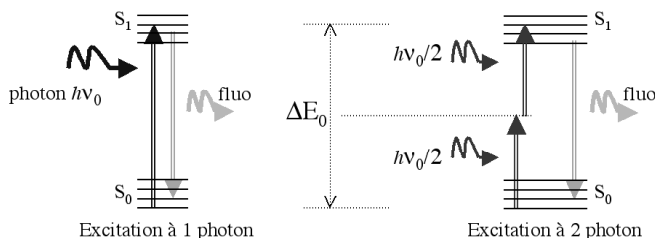


Figure 5 : Représentation schématique d'une molécule avec son niveau électronique fondamental S_0 et son premier état électronique excité S_1 , tous deux assortis de quelques niveaux vibrationnels. L'excitation d'une transition électronique suppose l'absorption d'un photon d'énergie $h\nu$ égale à la différence d'énergie ΔE entre les deux systèmes électroniques. La transition produite par un effet non-linéaire proportionnel au carré du champ électrique correspond à un processus d'absorption à deux photons d'énergie moitié, prédit par Maria Göppert-Mayer [Göppert-Mayer 1931].

Quel est le rapport entre cette possibilité de transition induite par plusieurs photons et le fait que la réponse optique d'une molécule soit la somme de réponses à des puissances de l'intensité ? De façon schématique, si un champ électrique \mathbf{E} de pulsation ω fournit des effets proportionnels à \mathbf{E}^2 , la pulsation associée sera 2ω , et les échanges entre le champ et la molécule seront quantifiés par l'énergie $h.2\nu$. Tout se passe donc comme si le champ électrique \mathbf{E} échangeait de l'énergie par paquets de deux photons. Pour optimiser la transition ΔE_0 considérée, on prendra donc un champ \mathbf{E} de pulsation $2\pi\Delta E_0/2h$.

Le passage du langage des champs électriques que l'on multiplie entre eux à celui des photons que l'on additionne nous permet de construire maintenant la notion de section efficace. Cette notion est d'abord rappelée dans la figure 6 suivante pour un processus d'interaction lumière-molécule à un photon. La section efficace à un photon σ_{1pe} est définie pour une molécule comme le rapport entre W_{1pe} , le nombre de transitions $S_0 \rightarrow S_1$ qu'elle subit par seconde et le flux Φ de photons qui cause cette transition : $\sigma_{1pe} = W_{1pe}/\Phi$. La quantité W_{1pe} , est construite comme une probabilité : la probabilité de transition pendant une durée dt est donnée par $dt.W_{1pe}$. La section σ_{1pe} ne dépend que de la molécule considérée, et la courbe donnant σ_{1pe} en fonction de la longueur d'onde n'est autre que le spectre d'absorption de la molécule.

flux de photons : $[\Phi] = [L^{-2}] \cdot [T^{-1}]$

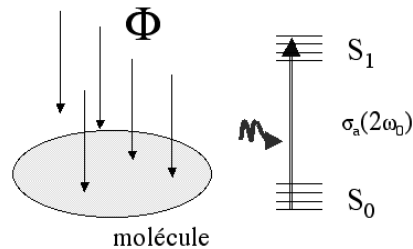
taux de transition : W_{1pe} , en s^{-1}

section efficace : $W_{1pe} = \sigma_{1pe} \Phi$

$\Rightarrow \sigma_{1pe} = \sigma_a(2\omega_0) = [L^2]$

$W_{2pe} = \sigma_{2pe} \Phi^2 \Rightarrow [\sigma_{2pe}] = [L^4 T]$

Goppert-Mayer : $1 \text{ GM} = 10^{-50} \text{ cm}^4.s$



Ordres de grandeur de σ_{1pe} et σ_{2pe}

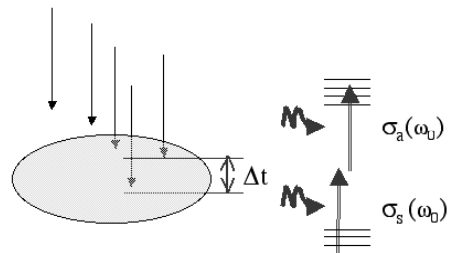
$\sigma_{2pe} \approx \sigma_s(\omega_0) \cdot \Delta t \cdot \sigma_a(\omega_0)$

$\Delta t > 1/\omega \approx 10^{-15} \text{ s}$

$\sigma_s \approx \sigma_a \approx 10^{-16} \text{ cm}^2$, (1 \AA^2)

$\sigma_{2pe} \approx 10^{-47} \text{ cm}^4.s = 10^3 \text{ GM}$

typiquement : $1-10 \text{ GM}$ ($0.7 \mu\text{m} < \lambda < 1 \mu\text{m}$)



Flux solaire non focalisé : $\approx 10^{15} \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$, avec $\sigma_{2pe} \approx 1 \text{ GM} \rightarrow W_{2pe} \approx 10^{-20} \text{ s}^{-1}$

Figure 6 : Notions de section efficace à un ou deux photons. Construction dimensionnelle et estimation des ordres de grandeur pertinents.

De la même façon, la section efficace d'absorption à deux photons σ_{2pe} est définie comme le rapport entre la probabilité de transition W_{2pe} et le carré Φ^2 du flux de photons : $\sigma_{2pe} = W_{2pe} / \Phi^2$. L'analyse dimensionnelle montre ici que cette section efficace n'est plus homogène à une surface comme σ_{1pe} , mais au produit d'une surface au carré par un temps. Cette unité particulière de section d'absorption à deux photons porte le nom de Göppert-Mayer : $1 \text{ GM} = 10^{-50} \text{ cm}^4 \cdot \text{s}$. Cette unité est très petite, mais adaptée à des transitions biphotoniques en général très improbables. L'interprétation de cette section efficace σ_{2pe} peut se construire en considérant un calcul de probabilité imité du calcul de la pression dans un problème de gaz parfait. Les ingrédients de la transition sont d'abord une section efficace de diffusion σ_s , une section d'absorption d'un second photon σ_a , et un temps caractéristique Δt qui correspond à la durée de vie de l'état virtuel atteint avant absorption. Ce temps caractéristique peut s'estimer à partir de la relation d'incertitude de Heisenberg et fournit la durée typique pendant laquelle il est possible de construire deux événements coïncidents de probabilités $\sigma_s \cdot \Phi$ et $\sigma_a \cdot \Phi$. D'où l'identité $\sigma_{2pe} = \sigma_s \cdot \sigma_a \cdot \Delta t$. L'estimation de la probabilité typique de transition par absorption biphotonique du flux de rayonnement solaire sur la terre donne un ordre de grandeur qui laisse entrevoir pourquoi l'optique non-linéaire n'appartient pas à la vie quotidienne, même à supposer une focalisation colossale de ce flux.

2. Comment favoriser des interactions improbables

L'estimation des sections efficaces des transitions à deux photons montre que ces effets non-linéaires sont hautement improbables : le flux nécessaire pour obtenir environ 10^3 - 10^4 photons de fluorescence par seconde est de l'ordre de $100 \text{ kW} \cdot \text{cm}^{-2}$. De telles puissances sont totalement incompatibles avec la préservation d'un échantillon aqueux : il serait vaporisé instantanément. On a donc recours à des lasers fournissant des impulsions ultrabrèves, de l'ordre de 60 à 200 femtosecondes. Ces lasers sont commerciaux et ceux utilisés pour l'imagerie répètent les impulsions à une fréquence de l'ordre de 80 MHz avec une puissance moyenne de l'ordre de 1 Watt. La durée qui sépare deux impulsions est donc 10^5 fois supérieure à la durée d'une impulsion. La puissance crête est donc environ 10^5 fois supérieure à la puissance moyenne, soit 100 kW . Focalisée à travers l'objectif d'un microscope, cette puissance crête permet d'atteindre sur des surfaces de l'ordre de $1 \mu\text{m}^2$ des flux de l'ordre de $10^{13} \text{ Watt} \cdot \text{cm}^{-2}$. Une atténuation s'impose donc, mais l'excès de puissance sera utilisé pour imager des objets épais dans lesquels la lumière est fortement diffusée ou absorbée sur son chemin vers le point focal. Du point de vue thermique, il suffit pour l'imagerie d'environ 10 picoJoule par impulsion.

3. Obtention des images par excitation à deux photons

La combinaison des idées de localisation par effets non-linéaires et de focalisation spatiale et temporelle, pour augmenter la probabilité de ces effets, permet de résoudre le paradoxe relevé au début de ce chapitre au sujet de l'imagerie dans des échantillons épais. La figure 7 illustre ce propos. Une solution de fluorophore est soumise soit à une excitation linéaire classique visible non-localisée, soit à une excitation non-linéaire localisée, par des photons infrarouges. Notons que, pour les fluorophores d'usage courant, la longueur d'onde d'excitation à « 1-photon » est dans la plage 350-550 nm. La région spectrale utile en mode « 2-photon » sera donc l'infrarouge entre 700 et 1100 nm, plage dans laquelle les tissus sont très peu absorbants.

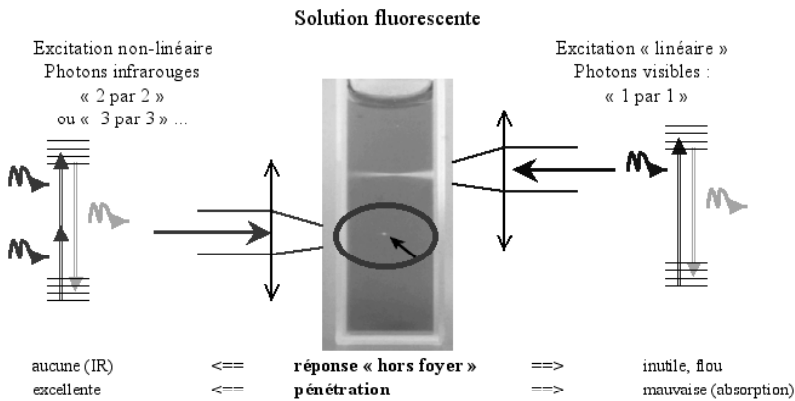


Figure 7 : Effet de localisation de l'excitation de la fluorescence par deux photons. Une solution homogène fluorescente est excitée par un laser pulsé femtoseconde infrarouge (à gauche) ou par un laser continu de longueur d'onde visible (à droite). L'intensité des impulsions suffit à exciter une fluorescence localisée par une interaction à deux photons. Le rayonnement infrarouge pénètre mieux dans l'échantillon que la lumière visible. La localisation permet plus aisément de construire une image (voir figures 2 et 8).

Le principe qui précède répond aux exigences paradoxales que nous avons relevées pour l'imagerie des objets épais. Il est à la base des microscopes dits « multiphoton » dont les organes principaux sont représentés sur le schéma de la figure 8.

Le balayage permis par ce dispositif est très semblable à celui pratiqué en microscopie confocale. Il permet d'imager typiquement une ligne par milliseconde. Les détecteurs sont en général des photomultiplicateurs, et les images sont discrétisées sous forme de pixels qui correspondent aux signaux intégrés sur des régions en général plus petites que la résolution du microscope, et des durées de 1 à 100 μ s [Pawley, Diaspro].

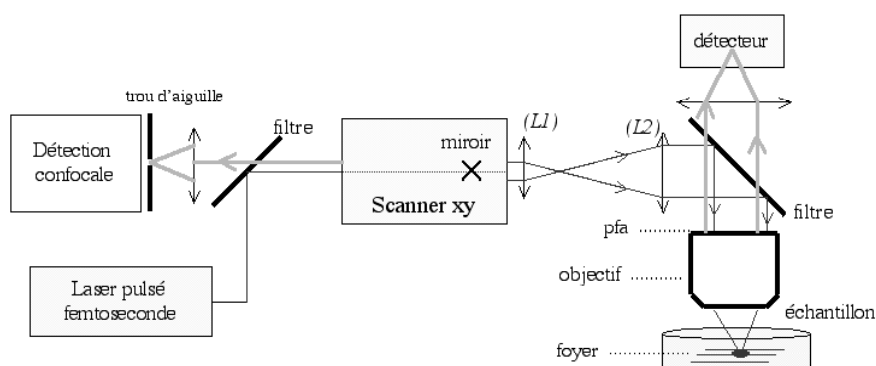


Figure 8 : Schéma de principe d'un microscope multiphoton : le faisceau (rayons fins) produit par un laser femtoseconde (oscillateur Titane-saphir) est injecté dans un scanner qui a pour fonction de balayer le faisceau dans l'échantillon grâce à deux miroirs perpendiculaires (X). Pour cela, deux lentilles (L1 et L2) placées entre la sortie du scanner et l'entrée de l'objectif assurent la conjugaison optique entre le plan des miroirs du scanner (miroirs non-visibles) et le plan focal arrière de l'objectif (pfa, plan d'entrée). Cette conjugaison garantit que la lumière rentre en totalité dans l'objectif, quel que soit l'angle imposé par les miroirs. Au retour, la fluorescence (rayons épais) spectralement distincte peut soit aller directement sur le détecteur à travers un premier filtre qui sépare spectralement l'émission de l'excitation, soit, en remplaçant ce premier filtre par un miroir total, suivre le chemin en sens inverse dans le scanner pour aboutir dans une détection confocale. Un second filtre spectral sépare la fluorescence (rayons épais) du faisceau d'excitation (rayons fins).

III - Applications en biologie et intérêt potentiel pour le diagnostic par biopsie optique

1. Les acquis récents de la microscopie en fluorescence

La microscopie de fluorescence est un domaine très riche de l'imagerie, qui offre de très nombreux outils au biologiste, qu'il s'agisse de la grande variété des chromophores [Haughland 2002], ou de la diversité des approches spectroscopiques possibles. Une des avancées majeures des années 1990 est la combinaison des outils très puissants de la biologie moléculaire avec ceux de l'imagerie de fluorescence, grâce à l'exploitation d'une protéine devenue indispensable, la GFP (*Green Fluorescent Protein*) [Patterson 1997]. Il s'agit d'une protéine, produite par certains organismes - méduses-, qui fluoresce naturellement en vert si elle est excitée par une longueur d'onde voisine de 490 nm. Il suffit donc d'induire sa production dans les cellules d'un organisme hôte pour que celles-ci deviennent fluorescentes. Il est possible de lier le gène de cette GFP au gène codant pour une protéine cible donnée. Il en résulte une protéine dite de fusion, à la fois fluorescente et dotée des propriétés biologiques de la protéine cible. Par ailleurs, la biologie moléculaire a été mise à contribution pour créer artificiellement des mutants de la GFP, et l'on dispose aujourd'hui d'une

palette multicolore de telles protéines fluorescentes permettant de suivre la localisation de diverses protéines cibles, d'évaluer l'expression du promoteur d'un gène donné, ... L'immense progrès que représente cette protéine, par rapport à des techniques qui souvent nécessitaient de fixer et donc de « tuer » l'échantillon, a ouvert un large champ d'investigations basées sur la possibilité de filmer les processus vivants au cours des étapes de la vie d'une cellule : migration, division, transports internes, etc.

L'imagerie de fluorescence non-linéaire bénéficie du fait que la plupart des méthodes de fluorescence linéaire sont transposables en mode non-linéaire, avec de surcroît les avantages spécifiques liés à la localisation de l'excitation et à la pénétration en profondeur dans les tissus [Centonze 1998]. Il est par exemple maintenant possible de suivre l'évolution de processus cellulaires chez l'animal anesthésié : transmission d'un influx nerveux ou évolution de la forme des neurones [Dunaevsky 1999], migration d'un lymphocyte dans un ganglion [Miller 2002], ou, pour ce qui nous concerne au laboratoire, la migration d'un parasite dans un modèle animal de la pathologie humaine étudiée [Coudrier *et al.* communication personnelle], ou l'attaque d'une tumeur par un lymphocyte cytotoxique.

2. Imagerie intrinsèque et diagnostic par biopsie optique

Les tissus biologiques sont optiquement excitables dans le domaine des rayonnements visibles. Ceci est dû entre autres phénomènes à la fluorescence intrinsèque des tissus qui se manifeste, par définition, en l'absence de toute coloration externe. Nous avons montré que cette réponse intrinsèque fournit des signaux suffisamment intenses pour donner des images à fort contraste et haute résolution. La figure 9 montre deux exemples : le poumon et le foie. Le tissu peut être visualisé à grande échelle (poumon) ou à l'échelle du micron pour révéler les structures sub-cellulaires.

Les images intrinsèques obtenues sur des tissus humains ou murins pathologiques suggèrent que l'imagerie non-linéaire intrinsèque pourrait être la base d'un nouveau type de diagnostic par biopsie optique. En effet, les pathologies se manifestent souvent par un désordre tissulaire que le praticien anatomopathologiste détecte lors d'une analyse microscopique poussée d'un grand nombre d'échantillons. Les résultats de ce type d'analyse sont disponibles avec un délai de plusieurs jours, après que le fragment de tissu extrait ait été sectionné, coloré, monté. L'idée que des images semblables soient accessibles en quelques minutes, et peut-être même *in situ*, motive actuellement un effort important de développement de l'imagerie non-linéaire à l'Institut Curie entre physiciens, biologistes et médecins.

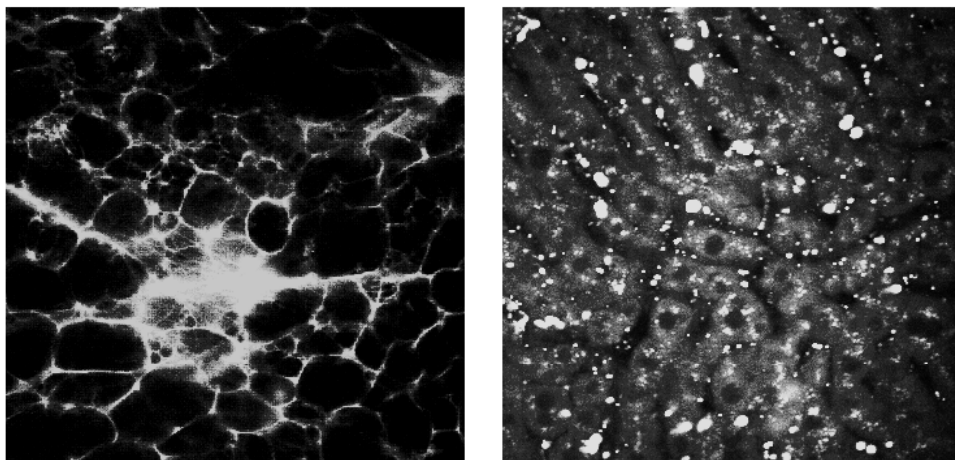


Figure 9 : Images d'un poumon et d'un foie de souris, fraîchement disséqués, et observés directement sans coloration par microscopie de fluorescence à deux photons. Le poumon à gauche et le foie à droite sont déposés entiers sur le microscope, et le plan de mise au point est placé dans la profondeur du tissu -ici environ 150 microns. Les alvéoles pulmonaires sont visibles. Dans le foie, les cellules apparaissent sous forme de travées, et les noyaux correspondent aux régions circulaires sombres. La taille des images est de 300 microns pour le poumon et de 150 microns pour le foie.

Bibliographie

- Carrington W. 2002. Imaging live cells using wide-field microscopy with image restoration. *In* Confocal and two-photon microscopy. A. Diaspro, editeur (Wiley, New York) 333-346.
- Centonze, V. E., et J. G. White. 1998. Multiphoton excitation provides optical sections from deeper within scattering specimens than confocal imaging. *Biophys. J.* 75:2015–2024.
- Denk W. et K. Svoboda. 1997. Photon upmanship: why multiphoton imaging is more than a gimmick. *Neuron*. 18:351–357.
- Denk W., D. W. Piston et W. W. Webb. 1995. Two-photon molecular excitation in laser-scanning microscopy. *In* Handbook of Biological Confocal Microscopy. J. B. Pawley, editeur. Plenum Press, New York. 445–458.
- Denk, W., J. H. Strickler et W. W. Webb. 1990. Two-photon laser scanning fluorescence microscopy. *Science*. 248:73–76.
- Diaspro W. et Sheppard C.J.R. 2002. Two-photon excitation fluorescence microscopy. *In* Confocal and two-photon microscopy. A. Diaspro, editeur. Wiley, New York. 39-73.
- Dunaevsky A. *et al.* 1999. Developmental regulation of spine motility in the mammalian central nervous system. *PNAS*, 96:13438–13443.
- Göppert-Mayer M. 1931. Über elementarakte mit zwei Quantensprungen. *Annalen der Physik*. 9:273-295.
- Haughland R.P. 2002. Handbook of fluorescent probes. Molecular Probes, Inc.
- Miller M.J. *et al.* 2002. Two-Photon Imaging of Lymphocyte Motility and Antigen Response in Intact Lymph Node. *Science*. 296:1869-1873.

- Patterson, G. H., S. M. Knobel, W. D. Sharif, S. R. Kain et D. W. Piston. 1997. Use of the green-fluorescent protein (GFP) and its mutants in quantitative fluorescence microscopy. *Biophys. J.* 73:2782–2790.
- Pawley J.B. 1995. Handbook of Biological Confocal Microscopy, Plenum Press, New York.
- Sheppard C.J.R. et Kompfer R. 1978. Resonant scanning optical microscope. *Applied optics*, 17:2879-2882.
- Ronot X. et Schoëvaert D. 1999. Dynamique de la cellule vivante, INSERM éditions, Paris.

Action d'une protéine sur une molécule unique d'ADN

V. CROQUETTE, G. CHARVIN, J-F. ALLEMAND, G. LIA, T. LIONNET,
O. SALEH, H. YOKOTA, N. DEKKER, M-N. DESSINGES et D. BENSIMON
Laboratoire de Physique Statistique de l'École Normale Supérieure, Paris
et

Département de Biologie de l'École Normale Supérieure, Paris
mél : Vincent.Croquette@lps.ens.fr

Nous décrivons des expériences faites sur une molécule d'ADN qui nous permettent de mieux comprendre le fonctionnement des enzymes agissant sur ce biopolymère au sein de nos cellules. Le principe de ces expériences est d'attacher une molécule d'ADN par une extrémité à une microbille magnétique tandis que l'autre est fixée à une lamelle de verre. En utilisant de simples aimants nous pouvons tirer et tordre cette molécule. A l'aide d'un microscope optique nous mesurons la position de la bille en temps réel. Nous déterminons ainsi la force de traction exercée sur cette molécule et son extension. Les variations de celle-ci reflètent l'action des enzymes qui changent la forme ou la topologie de l'ADN. En utilisant de faibles concentrations d'enzyme nous sommes sensibles à l'action d'une seule enzyme et même, dans certains cas, nous observons les cycles enzymatiques un à un. Nous nous intéressons aux enzymes impliquées dans la réplication de l'ADN et nous suivons l'action d'une polymérase recopiant le message génétique. Nous montrons aussi comment la topoisomérase II enlève deux par deux les torsades qui peuvent se former lors du processus de réplication tandis que la topoisomérase I opère tour par tour.

I - Introduction

Depuis quelques années, plusieurs équipes se sont lancées dans des expériences de micromanipulation de molécules uniques, destinées à élargir le champ d'investigation en biologie moléculaire. Pour mieux comprendre le fonctionnement de nos muscles, il fallait pouvoir observer l'activité d'une seule protéine et montrer qu'en changeant de conformation dynamiquement celle-ci provoquait un mouvement : en utilisant des «pincettes optiques» plusieurs groupes ont mesuré la force et le déplacement élémentaire d'une protéine musculaire [1,2]. De même, quelle ne fut pas notre surprise de découvrir l'existence d'un moteur moléculaire rotatif de 10 nanomètres de diamètre, tournant à un rythme effréné (8000tr/min) au sein de nos cellules, comportant un stator et un rotor en forme d'arbre à cames auquel les chercheurs japonais ont réussi à accrocher un marqueur visible au microscope optique [3]. Grâce à un microscope à force atomique (AFM), une équipe allemande a pu mesurer la cinétique de dénaturation d'une protéine soumise à une force de traction [4], et la force de rupture du couple récepteur-ligand *biotine/streptavidine* est maintenant connue [5,6]. En utilisant la très grande souplesse d'une micro-pipette en verre, des chercheurs français ont déterminé l'énergie d'appariement des bases de

l'ADN [7]. Ces magnifiques expériences illustrent une nouvelle approche des problèmes biologiques dans laquelle les physiciens et les chimistes ont mis leur savoir-faire pour mieux répondre aux questions de la biologie moléculaire.

Nous présentons ici une technique de micromanipulation des molécules d'ADN qui nous permet d'observer l'activité des enzymes agissant sur cette molécule. Cet article est en fait le complément d'un article précédent réalisé en 2000 [8] auquel le lecteur a accès libre; nous avons choisi de faire un rappel succinct de notre dispositif expérimental permettant de comprendre les mesures faites sur les enzymes sur lesquels nous nous attarderons un peu plus. Nous suggérons au lecteur désireux de connaître les détails qui ne sont pas présentés ici de consulter la référence [8].

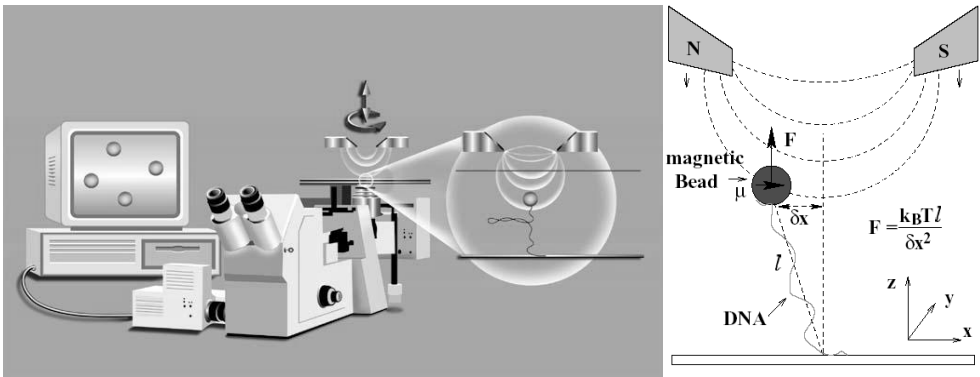


Figure 1: Principe de la micromanipulation d'une molécule d'ADN.

Les molécules d'ADN sont introduites dans un capillaire disposé sur un microscope inversé. Des aimants réglables en hauteur et pouvant tourner sur eux-mêmes permettent d'appliquer une contrainte de traction et de torsion sur la molécule par l'intermédiaire d'une microbille magnétique. Une caméra CCD reliée à un ordinateur enregistre les déplacements de la bille (agrandissement). L'ADN est fixé à la bille recouverte de streptavidine par son extrémité biotinilée et à la surface recouverte d'*antidigoxigénine* par son autre extrémité traitée à la *digoxigénine*. (Photo issue de Biofutur [9])

La molécule d'ADN est un polymère extraordinaire à plus d'un titre. C'est bien évidemment le support de notre information génétique et pour mieux protéger celle-ci, deux copies complémentaires sont conservées chacune sous la forme d'un polymère : l'ADN simple-brin. Les bases qui constituent l'alphabet de ce code sont accrochées latéralement le long d'un polymère et s'hybrident par des liaisons hydrogène aux bases du second brin. On représente souvent l'ADN double-brin comme une échelle dont les montants sont constitués des squelettes phosphodiesters et les échelons sont des paires de bases complémentaires (AT), (GC). C'est la fameuse double hélice de Watson et Crick, encore appelée ADN-B [10].

La structure de la molécule est liée à la très forte interaction qui existe entre les bases : celles-ci sont hydrophobes et comme elles sont plates, elles préfèrent s'empiler les unes sur les autres comme des assiettes afin de minimiser leur surface de contact avec l'eau. L'épaisseur d'une base est de 3,4 Å, la distance qui sépare deux points d'attache successifs sur le squelette phosphodiester est d'environ de 7 Å. Dans la double hélice, les squelettes phosphodiesters sont donc fortement inclinés, les 7 Å se projettent ainsi en 3,4 Å au prix d'une rotation d'environ 36° entre paires de bases successives.

Pour réaliser des expériences d'élasticité sur une molécule d'ADN, nous attachons une extrémité de la molécule sur une surface de verre tandis que l'autre est accrochée à une microbille. Nous réalisons ainsi un Jokari moléculaire. L'utilisation d'une bille magnétique permet d'exercer une force sur la molécule grâce à des aimants placés au-dessus qui produisent un gradient de champ magnétique. La figure 1 donne le schéma de principe de l'expérience. Les échelles des différents composants ne sont pas respectées ; en effet, le diamètre de la bille est de l'ordre de 3 µm tandis que les aimants font quelques millimètres.

Afin d'accrocher chacune des extrémités de la molécule à un substrat différent, nous utilisons le processus biochimique de type clef-serrure. La *biotine* (plus connue sous le nom de vitamine H) est une petite molécule (une clef) qui peut se loger dans une poche (serrure) d'une protéine nommée *streptavidine*. Lorsque cette clef est placée dans cette serrure, elle y est maintenue par un très grand nombre de liaisons hydrogène dont l'association produit une liaison presque aussi solide qu'une liaison covalente.

Nous utilisons le code génétique pour greffer à une extrémité des molécules de biotine et de la digoxigénine à la seconde extrémité. L'accrochage de chaque extrémité se fait en plusieurs points, ce qui le rend plus solide mais surtout interdit toute rotation autour des points d'attache, nous permettant ainsi de tordre la molécule. Pour préparer un échantillon, nous absorbons de l'*antidigoxigénine* sur les parois d'un capillaire, nous y injectons alors une solution de molécules d'ADN attachées à des billes magnétiques et nous laissons incubé. Le Jokari moléculaire se fabrique spontanément. Nous avons choisi des concentrations d'ADN et de billes telles qu'en moyenne il y ait une molécule d'ADN par bille ; cependant, nous n'avons aucun moyen d'empêcher que plusieurs molécules s'accrochent à la même bille. Nous devons donc vérifier *a posteriori* qu'une seule molécule est attachée à la bille étudiée. Pour cela, nous mesurons la force qu'il faut développer pour l'écarter de la surface du capillaire, celle-ci est minimum quand une seule molécule est impliquée dans la liaison. Nous allons maintenant décrire la méthode de mesure de force que nous utilisons.

II - Mesurer la force d'étirement d'une molécule d'ADN

Rappelons d'abord l'ordre de grandeur des forces mises en jeu à l'échelle d'une molécule. L'énergie typique des phénomènes biologiques est donnée par l'agitation thermique, $k_B T = 4,21 \cdot 10^{-21} \text{ J}$, tandis que la distance d'action est le nanomètre. Le rapport de ces deux quantités est une force de quelques picoNewtons, c'est typiquement cette force qu'il faut développer pour étirer une molécule d'ADN. Cette valeur est extrêmement petite et il n'est pas facile de la détecter avec les dispositifs de mesure classiques. Nous avons mis au point une technique de mesure de force qui s'inspire de la méthode proposée par Einstein [11] pour déterminer la raideur d'un ressort.

En effet, lorsque nous appliquons une force sur la bille magnétique grâce à un gradient de champ, la molécule étirée et la bille forment un minuscule pendule. Celui-ci est animé d'un mouvement brownien, qui résulte de l'agitation des molécules d'eau qui l'entourent. On peut modéliser ce phénomène par une force aléatoire qui écarte le pendule de sa position d'équilibre vers laquelle il est ramené par la force de traction exercée sur l'ADN. La raideur de ce pendule k , s'écrit simplement $k = F/l$ (où F est la force de traction et l l'extension de la molécule). L'équipartition de l'énergie nous permet d'écrire que $(1/2)kx^2 = (1/2)k_B T$, où x est l'écart de la bille par rapport à sa position l'équilibre dans une direction perpendiculaire à la force (Fig. 2). En explicitant l'expression de la raideur, nous pouvons écrire que $F = k_B T / x^2$. Pour mesurer la force de traction sur la molécule d'ADN, il suffit de déterminer l'allongement l de la molécule et x^2 , les fluctuations quadratiques moyennes. La détermination de x^2 se fait en suivant les déplacements de la bille par un programme informatique qui analyse en temps réel son image vidéo avec une précision de 10 nm . La détermination de l'extension de la molécule requiert la mesure de sa position dans la direction de propagation de la lumière. Nous y parvenons en observant la forme des anneaux de diffraction qui décorent l'image de la bille en éclairage parallèle.

III – Mesure d'élasticité d'une molécule d'ADN

Nous enregistrons la courbe d'élasticité d'une molécule en analysant ses fluctuations et son extension pour différentes distances séparant les aimants de la bille (Fig. 3). La force varie ainsi depuis quelques dizaines de femtoNewtons jusqu'à quelques picoNewtons, l'extension de la molécule évolue sur une large gamme qui nous permet de comparer la courbe expérimentale au modèle théorique du ver (*worm-like chain* en anglais) [12-14].

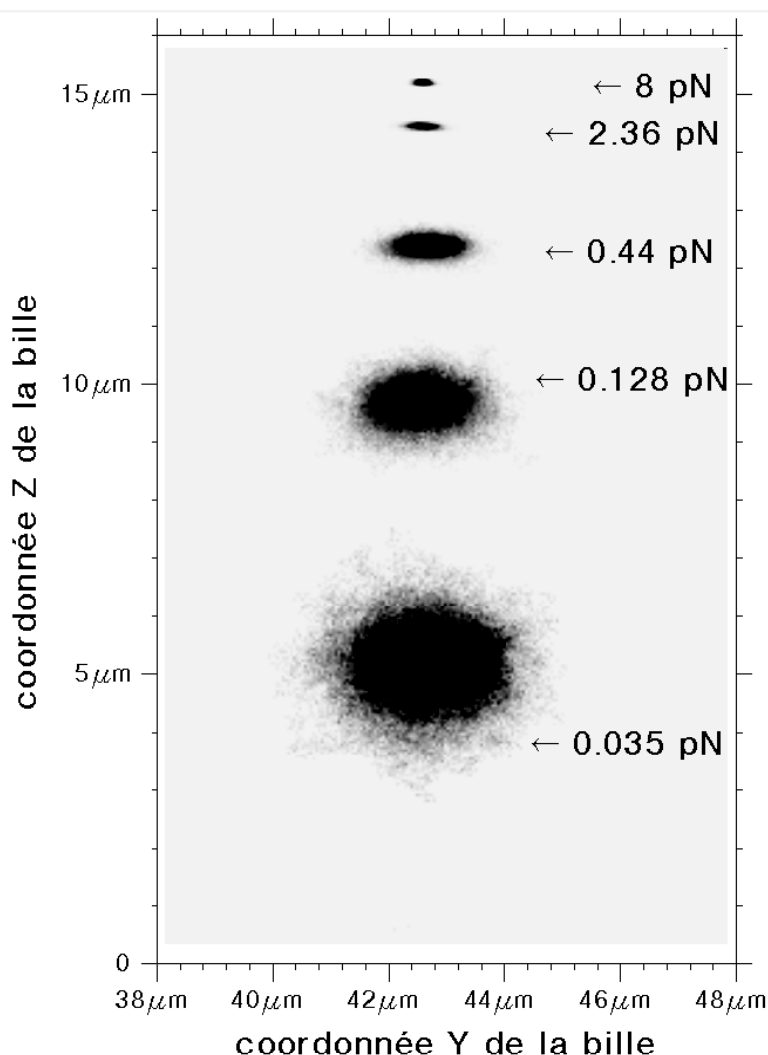


Figure 2: Enregistrement du mouvement brownien d'une bille de $2,8 \mu\text{m}$ de diamètre pour différentes forces appliquées. En un point, l'intensité de gris est proportionnelle au logarithme de la probabilité de visite de la bille. En rapprochant les aimants de la bille on augmente la force de traction sur la bille ; plus celle-ci est grande, plus la molécule s'allonge, et plus le mouvement brownien est restreint.

Cette comparaison nous permet de garantir que nous étirons une molécule unique. Cette courbe dépend très fortement de la structure moléculaire de l'ADN : ainsi si nous accrochons la bille à son substrat par une molécule d'ADN simple-brin, la courbe force/extension est complètement différente. Nous utiliserons cette propriété pour étudier la polymérase.

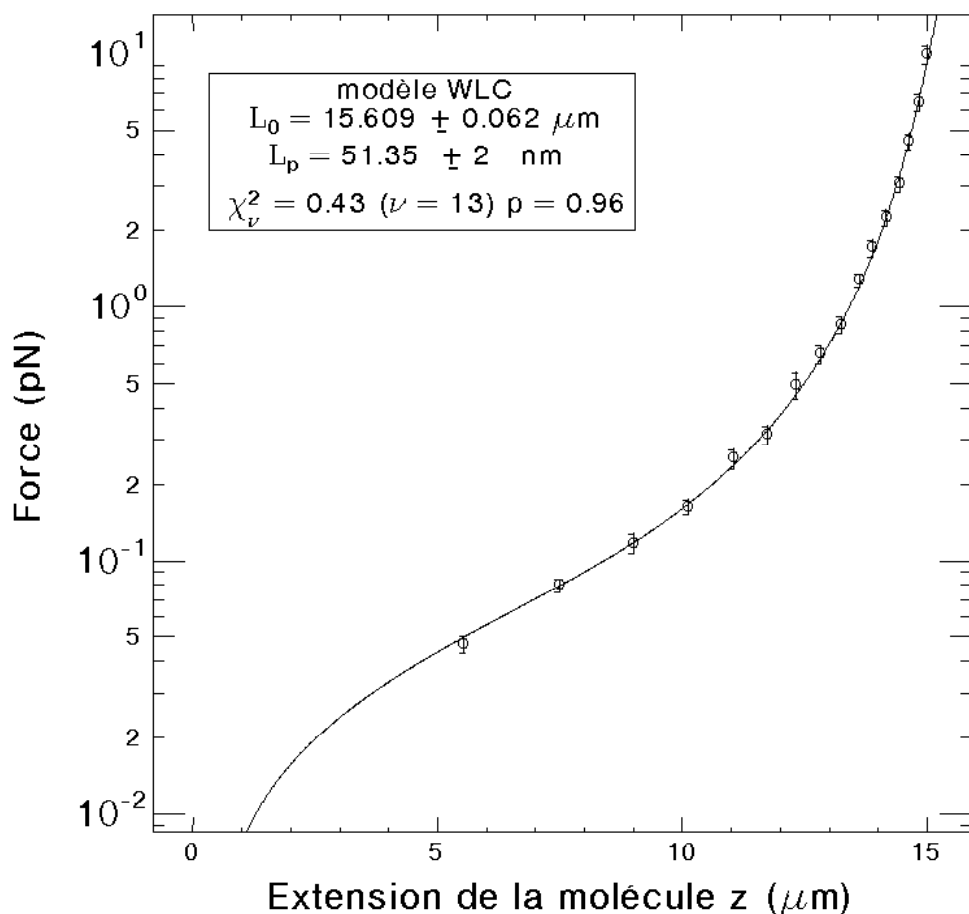


Figure 3 : Courbe de force obtenue grâce aux fluctuations browniennes (avec les barres d'erreur). En trait plein, courbe théorique du modèle du ver ajustant au mieux les points expérimentaux.

IV - L'élasticité d'une molécule d'ADN soumise à une torsion

Le champ magnétique de nos aimants est perpendiculaire à la direction d'extension de la molécule d'ADN. En faisant tourner les aimants, nous imprimons une rotation à la direction du champ, en gardant constante la force appliquée. La bille magnétique suit le champ, comme le ferait une boussole. Comme la molécule d'ADN est attachée à ses extrémités en plusieurs points, la rotation de la bille contrôle la torsion de la molécule d'ADN. Évidemment, cette contrainte de torsion n'existe que si la molécule est fixée en plusieurs points à la surface mais surtout qu'elle ne présente aucun *nick*, c'est-à-dire aucune coupure simple-brin. Ce type de défaut permet de relaxer toute contrainte de torsion puisque la molécule peut tourner librement autour du brin intact. Dans notre expérience, ces *nicks* sont assez fréquents et il n'y a que peu de molécules qui présentent une chaîne sans coupure sensible à la contrainte de torsion.

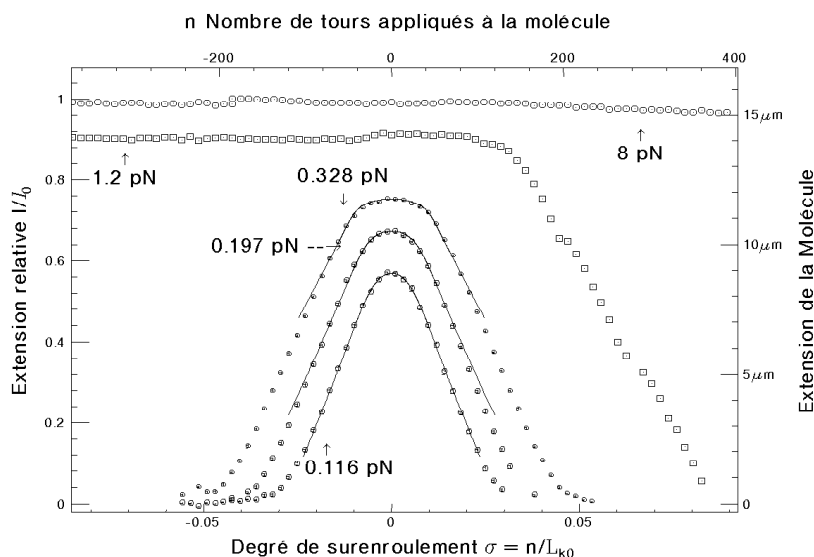


Figure 4: Courbes de l'extension relative en fonction du degré de sur-enroulement à force constante. Elles ont été baptisées «courbes en chapeau» du fait de leur forme à basse force.

La contrainte de torsion est un paramètre biologique important. Pour le caractériser, on compare le nombre de tours n ajoutés ou enlevés à la molécule au nombre de tours Lk_0 que présente celle-ci en l'absence de contrainte, à savoir un tour toutes les 10,5 paires de bases. Le rapport de ces deux nombres $\sigma = n/Lk_0$ permet de comparer des molécules de tailles différentes.

L'effet de la torsion sur une molécule d'ADN a été étudié avec soin par White [15]. Il se comprend facilement si nous le transposons au cas d'un tube de caoutchouc. Si nous tordons ce tube régulièrement en maintenant une force de traction constante, celui-ci oppose un couple proportionnel à l'angle de torsion. Si maintenant nous relâchons la force de traction en maintenant l'angle de torsion constant, une instabilité ne tarde pas à apparaître sous forme de «tortillons», bien connus sur les fils des combinés téléphoniques. Lors de leur formation, le couple de torsion diminue de façon notable. Les tortillons absorbent une part importante de la contrainte. En fait, cette instabilité est le résultat d'une compétition entre deux mécanismes dont les contributions énergétiques sont la torsion pure et la courbure. Pour les faibles contraintes, le tube reste droit afin de minimiser son énergie de courbure. Aux fortes contraintes, l'énergie de torsion est trop grande et il devient rentable de courber la molécule afin de former des boucles qui réduise la torsion. A l'échelle de la molécule d'ADN, les mécanismes sont presque équivalents, il faut seulement ajouter des fluctuations thermiques importantes qui adoucissent l'apparition de

l'instabilité d'entortillements (encore appelés *plectonèmes*). Ces tortillons produisent un raccourcissement de la molécule. Ainsi, si nous appliquons une faible force sur une molécule d'ADN et si nous portons son allongement en fonction du nombre de tours n qui lui est appliqué, nous observons une courbe en cloche. L'extension est maximale pour une contrainte nulle, elle diminue lorsque n augmente et ce, quel que soit son signe. Ce comportement correspond à la courbe symétrique de la figure 4, qui est en excellent accord avec les prédictions théoriques [16-18].

Lorsque nous répétons cette mesure avec une force de traction plus importante (de $1pN$) nous observons un comportement dissymétrique en fonction de σ . Pour $\sigma > 0$, la molécule se raccourcit comme précédemment. En revanche, pour $\sigma < 0$, cette longueur ne semble plus dépendre de σ . Cette dissymétrie relative au signe du degré de torsion est prévisible puisque la molécule d'ADN est chirale. La transition que nous décrivons correspond à l'apparition d'une «bulle de dénaturation». En sous-enroulant la double hélice, nous provoquons l'apparition d'une petite région où les liaisons hydrogène qui maintiennent les bases complémentaires des deux brins cèdent sous la contrainte (voir fig. 4) [19-22]. Le même phénomène est observé sur une corde à deux torons que l'on déroule.

IV - La réplication de l'ADN nécessite des opérations mécaniques

Dans leur article relatant la découverte de la double hélice, Crick et Watson ont proposé au détour d'une phrase anodine que cette structure permettait facilement de recopier le message génétique : il suffit simplement de séparer les deux brins et de les recopier en se servant de chacun comme modèle pour associer les bases complémentaires. Ce mécanisme, séduisant dans son principe, nécessite cependant la coopération de plusieurs enzymes dont la découverte ne tarda pas. Il faut d'abord ouvrir une bulle de dénaturation en brisant les liaisons hydrogène entre les bases. Cette opération, qui consomme de l'énergie, est assurée par les hélicases (qui cassent la double hélice). Les ADN simple-brin qui apparaissent ainsi sont pris en charge par des ADN polymérases qui recopient la molécule d'ADN transformant le simple-brin en une molécule double-brin en associant à chacune des bases de la molécule simple-brin les bases complémentaires. Ces enzymes sont évidemment fondamentales. Elles sont toutes les deux des moteurs moléculaires qui se déplacent à la jonction séparant une molécule double-brin d'une simple-brin, l'hélicase convertissant le double-brin en simple-brin et la polymérase faisant l'inverse. Finalement, la séparation des deux brins provoque le déroulement de l'ADN qui s'entortille fortement. Pour démêler cet écheveau, la cellule utilise les enzymes de la famille des topoisomérases qui sont capables de changer la topologie de l'ADN que nous discuterons également.

Aussi importante que puisse être le fonctionnement de ces enzymes, personne ne sait actuellement précisément comment ces moteurs moléculaires agissent sur l'ADN. Leurs propriétés dynamiques sont évaluées à l'aide d'expériences en tube à essai qui ne donnent accès qu'à des moyennes d'ensemble. Les expériences faites sur des molécules uniques tentent d'apporter des réponses plus pertinentes à ces questions. Expérimentalement, nous utilisons le jokari moléculaire pour mieux comprendre ces enzymes.

VI - Réplication d'une molécule d'ADN par une ADN polymérase

Dans le cas des polymérases nous plaçons cette fois une molécule d'ADN simple-brin entre la bille et la plaque de verre. La polymérase reste cependant inactive sur une molécule purement simple-brin. Elle a besoin d'un point d'amorçage de la réaction constitué par une jonction entre le simple-brin et le double-brin. Pour obtenir cette jonction, nous ajoutons à la solution un petit morceau d'ADN simple-brin complémentaire en un seul endroit de la molécule reliant la bille au substrat. En s'hybridant ce morceau d'ADN forme la petite région d'ADN double-brin qui va servir de point de démarrage pour la polymérase. Il suffit alors d'ajouter dans le milieu la polymérase et les bases de l'ADN pour que la synthèse puisse démarrer.

Dans cette expérience, la longueur de la molécule va nous permettre de suivre l'avancement de la réaction : ceci est possible parce que l'ADN simple-brin possède une courbe allongement/force très différente de celle de l'ADN double-brin. En effet, à basse force l'ADN simple-brin a tendance à réaliser des appariements fortuits entre bases conduisant à une molécule courte. Par contre à haute force, l'ADN simple-brin peut s'allonger beaucoup plus que l'ADN double-brin qui s'enroule en double hélice. À haute force la molécule simple-brin est donc plus longue que la molécule double-brin tandis que le comportement est inversé à basse force. Comme on peut le constater sur la figure 5, les deux courbes de force sont en quelque sorte «perpendiculaires» se croisant à une force de 5 pN . Dès lors que nous appliquons une force constante sur une molécule différente de ces 5 pN , la longueur de la molécule va dépendre de la proportion d'ADN simple-brin et double-brin. À basse force une molécule se transformant de simple-brin à double-brin sous l'action d'une polymérase s'allonge tandis qu'elle se raccourcit à haute force. La mesure de la longueur de la molécule en temps réel nous permet ainsi de suivre la progression de l'ADN-polymérase. Par construction il n'existe que deux jonctions simple-brin – double-brin sur notre molécule et une seule possède la polarité requise pour le fonctionnement de la polymérase ; nous sommes ainsi sensibles à l'activité d'une seule enzyme à la fois.

Nous observons que la synthèse du second brin se fait par à-coups avec de longues pauses. La vitesse de polymérisation dépend de la séquence répliquée et également de la polymérase employée. Par ailleurs, en exerçant une force de traction sur l'ADN simple-brin, dans un premier temps nous aidons la polymérase probablement en linéarisant l'ADN simple-brin, puis lorsque la force de traction devient plus importante nous ralentissons la progression de l'enzyme pour finalement l'arrêter à une force traction d'environ 20, pN (Fig. 6) [23]. Des expériences analogues ont été réalisées par le groupe de C. Bustamante [24].

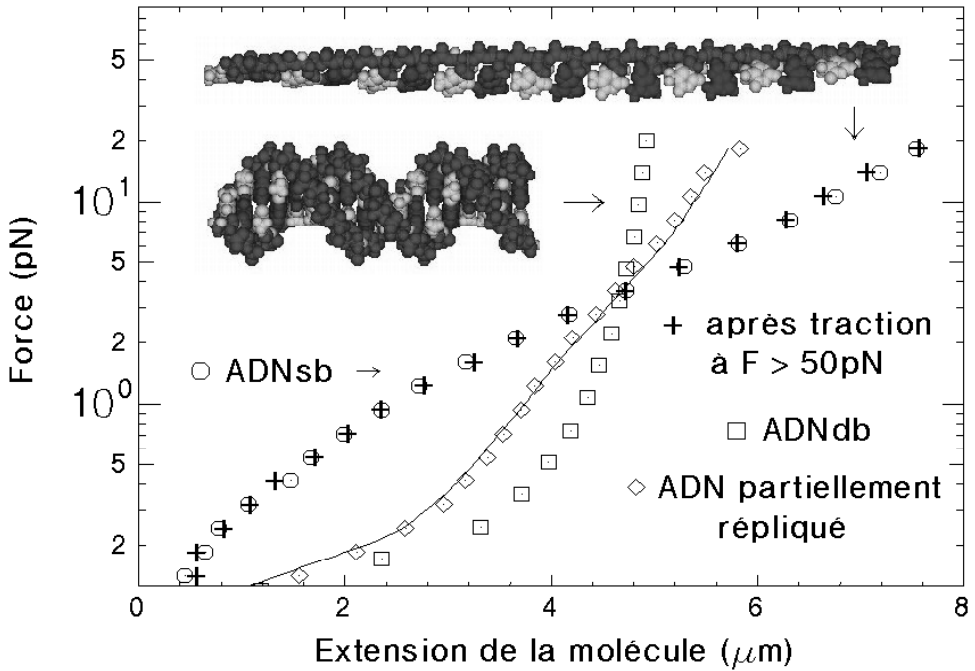


Figure 5 : Courbes de forces d'ADN simple-brin (ADNsb), d'ADN double-brin (ADNdb) et d'une molécule partiellement répliquée (hybride ADNsb et ADNdb). Dans ce dernier cas, la courbe force extension correspond à la combinaison linéaire des courbes de force de l'ADN simple-brin et double-brin. Imagerie en haut, comparaison d'un segment de 18 bases $[AT]_9$ en simple-brin et double-brin. Le simple-brin est complètement étendu, sa longueur est 2,1 fois plus grande que la molécule double-brin. (Image R. Lavery IBPC)

L'hélicase fait en quelque sorte le travail inverse de la polymérase : pour détecter son activité nous utilisons une molécule double-brin possédant une seule coupure simple-brin : un *nick*. L'hélicase trouve ainsi un point d'entrée dans la double hélice, elle peut séparer les deux brins à partir de cette brèche. Comme pour la polymérase, l'hélicase opère avec une polarité bien définie ce qui ne permet qu'à une seule enzyme de travailler à la fois. Cependant l'hélicase ne fait que séparer les deux brins de la double hélice, *a priori* rien n'empêche ceux-ci de reformer la molécule double-brin après le passage de l'enzyme [25]. Pour éviter cette situation,

nous appliquons une force de traction importante ($F > 30$ pN), ce qui conduit l'ADN simple-brin à présenter un allongement notable par rapport à sa forme double-brin. Dans ces conditions, l'hybridation des deux parties simple-brin est rendue impossible tant que l'hélicase est présente à la jonction. Par ailleurs, au fur et à mesure que l'hélicase progresse, l'extension de la molécule augmente, permettant ainsi une mesure en temps réel de l'activité enzymatique. L'hélicase finit par se détacher de la molécule, permettant alors au deux brins de reformer la double hélice comme on ferme une fermeture Éclair. Cette étape très rapide correspond à un raccourcissement de la molécule qui retrouve sa longueur originale. L'observation des bouffées d'activités en temps réel est riche d'information biologique : la montée régulière de la bille permet d'accéder à la vitesse de l'hélicase, leur durée définit le temps d'activité typique et l'amplitude de ces bouffées nous donne la processivité de cette enzyme. Nous obtenons des vitesses d'enzyme nettement supérieures à ce qui est mesuré dans les expériences faites en tube à essai. Ceci n'est guère étonnant car ces mesures font la moyenne entre les phases d'activité et de réhybridation qu'elles ne peuvent distinguer.

VIII - Les topoisomérases enlèvent les nœuds d'une molécule d'ADN

Dans la cellule, la molécule d'ADN d'un chromosome mesure une dizaine de centimètres de long tandis qu'elle est empaquetée dans le noyau qui fait au plus dix microns de diamètre. Pour dupliquer cette molécule, un ensemble d'enzymes en attrape les deux brins et les écarte afin d'ouvrir des bulles d'ADN dénaturé, chaque brin étant alors recopié. Si vous essayez de faire une opération équivalente sur une longue corde possédant deux torons, vous obtenez rapidement un paquet de nœuds inextricables. Au sein de nos cellules, le même phénomène se produit transitoirement, mais les enchevêtrements et les nœuds sont rapidement démêlés par d'étonnantes enzymes appartenant à la famille des topoisomérases qui, comme leur nom l'indique, peuvent modifier la topologie de la molécule d'ADN. Cette famille est divisée en deux groupes, les topos de type I qui sont capables de couper temporairement un seul des brins de l'ADN et celles de type II qui coupent les deux brins.

En ouvrant une brèche dans la double hélice, les topos de type I permettent à la molécule de tourner autour du brin intact et relâchent ainsi la contrainte de torsion existant sur une molécule, elles n'ont pas besoin d'énergie (ATP) pour faire cette opération. En revanche, les topoisomérases de type II se fixent au point de jonction de deux molécules d'ADN, coupent les deux brins de l'une d'elles et passent la molécule intacte à travers cette coupure tout en tenant les deux extrémités qu'elles recollent parfaitement après le passage de la molécule. Cette opération peu banale permet d'enlever les nœuds et de déconcaténer des molécules

enchevêtrées. Elle nécessite la présence d'un cofacteur énergétique : l'ATP. La topoisomérase II est très importante au cours du cycle cellulaire [26], ses inhibiteurs sont fréquemment utilisés comme agents anticancéreux puisqu'ils conduisent à l'impossibilité de démêler les chromosomes filles lors de la réplication entraînant le suicide de la cellule. Ces inhibiteurs provoquent ainsi la mort des cellules qui se reproduisent beaucoup.

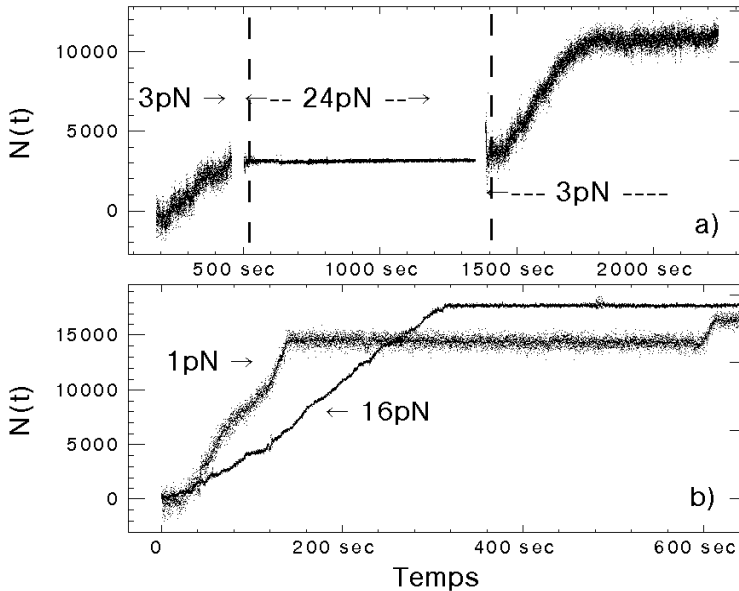


Figure 6: a) à 3 pN la polymérase progresse régulièrement. En étirant l'ADNss à 24 pN on arrête complètement la réplication. b) à 16 pN la polymérase progresse plus lentement mais plus régulièrement qu'à 1 pN.

Les mécanismes moléculaires mis en jeu lors du cycle catalytique des topoisomérases sont loin d'être complètement compris. Les expériences permettant de les caractériser sont délicates. En effet il est difficile de changer la torsion d'une molécule dans un tube à essai. En tordant une molécule d'ADN grâce à une bille magnétique manipulée par des aimants, nous avons la possibilité de réaliser très rapidement et de façon contrôlée des torsades comme celle des cordons téléphoniques. Leur apparition s'observe par le raccourcissement de la molécule. C'est précisément sur ces molécules qu'agissent ces enzymes. En les ajoutant dans la solution aqueuse où baigne la molécule d'ADN torsadée, nous pouvons observer leur action. Les deux types d'enzymes vont relâcher la contrainte de torsion provoquant un allongement sensible de la molécule. Cependant, les modes d'action des deux types d'enzymes sont différents ce qui se met facilement en évidence avec les pinces magnétiques.

Pour des raisons qui vont apparaître par la suite, les topos II s'avèrent plus simples à présenter. Nous commencerons donc par elles.

Nous ne détectons leur activité que pour des molécules dont l'extension est réduite par la rotation des aimants. Par contre, elles n'agissent pas tant que le nombre de tours est inférieur au seuil d'apparition des tortillons sur l'ADN. Ceci signifie que la topo II agit sur les entortillements de l'ADN et pas directement sur la torsion de la molécule. La topo II est active aussi bien sur des molécules sur-enroulées que sous-enroulées. Sa vitesse d'action V augmente linéairement avec la concentration d'ATP jusqu'à une certaine concentration au-delà de laquelle cette vitesse ne change plus. Cette dynamique est dite Michaelis-Menten d'ordre 1, typique d'une réaction enzymatique. L'action de l'enzyme conduit à un relâchement des torsades que nous observons par l'allongement de la molécule. Chaque fois que l'enzyme réalise un passage de brins, elle enlève en fait deux tours de torsion à la molécule. À très faible concentration d'enzyme et d'ATP, nous avons réussi à observer un à un le passage de brins d'une seule topoisomérase II sur une molécule d'ADN. Dans ces conditions, l'allongement de la molécule se fait par pas discrets de 90 nm (voir fig. 7) correspondant au relâchement de deux supertours (ou torsades) [27].

Notre dispositif offre des possibilités d'investigations nouvelles : nous avons mis en évidence la diminution de vitesse de relaxation des supertours avec la force de traction. C'est une indication sur l'étape limitante du cycle enzymatique : elle correspond probablement au recollage des deux morceaux d'ADN coupés qui doit se faire lorsqu'une fluctuation d'origine thermique les rapproche suffisamment.

En omettant d'ajouter de l'ATP dans le milieu expérimental, nous contrarions le fonctionnement de la topoisomérase II. En fait, le cycle catalytique commence, l'enzyme s'accroche à un croisement d'ADN mais elle est alors incapable de continuer et se détache après quelque temps. Cette association entre l'enzyme et l'ADN est observable avec notre méthode de mesure. Si la torsion de la molécule est ajustée juste au seuil d'apparition de la première torsade, nous observons une succession d'associations et de dissociations enzyme/ADN, conduisant à des sauts de longueur de la molécule de 45 nm. Nous pouvons ainsi mesurer les temps d'association de la topoisomérase avec son substrat.

Nous nous sommes intéressés à la topo Ia qui est l'enzyme de type I que l'on trouve dans le monde bactérien. L'ADN des bactéries présente un léger sous-enroulement établi par les gyrases, qui font aussi partie de la famille des topoisomérases. Le contrôle de ce sous-enroulement qui résulte de l'équilibre entre les gyrases et les topoisomérases Ia, permet à la bactérie de séparer plus facilement les deux brins de l'ADN. Comme les eucaryotes que nous sommes ne possèdent pas de gyrases, ses inhibiteurs neutralisent les bactéries et constituent des antibiotiques. La topo Ia des bactéries ne relâche la torsion que lorsque le sous-enroulement devient trop fort et provoque l'apparition de bulles de dénaturation dans l'ADN.

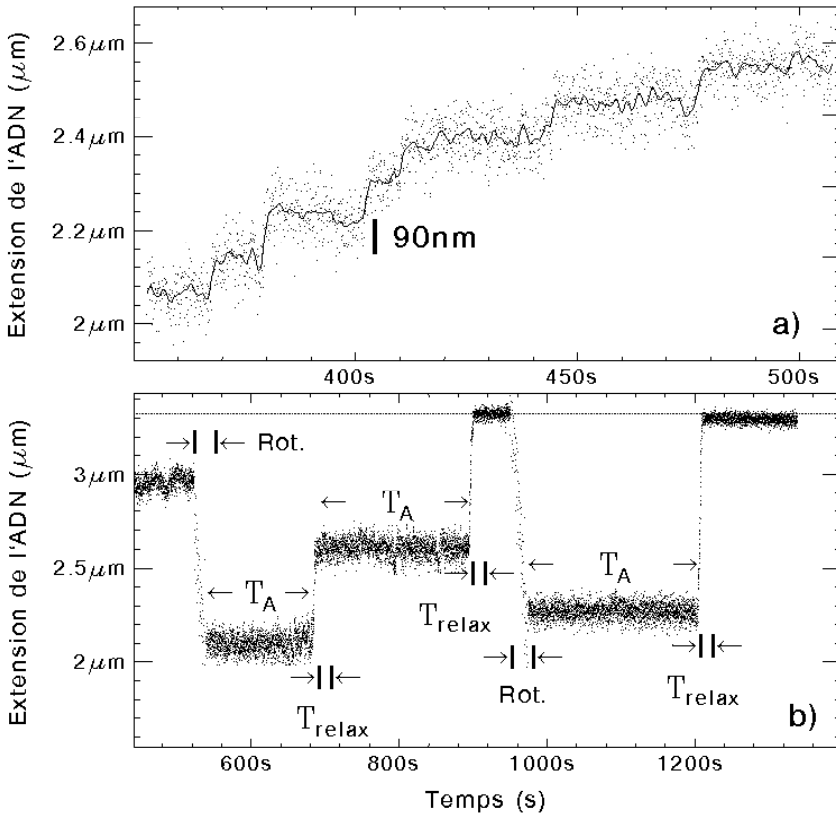


Figure 7: Relaxation de la longueur d'une molécule d'ADN torsadée. a) lorsque l'ATP est à basse concentration on observe une relaxation par pas de 90 nm correspondant à chaque cycle catalytique d'une seule enzyme qui enlève deux tours. b) avec une concentration normale d'ATP, la relaxation se fait par bouffées rapides (T_{relax}), séparées par de longues phases d'attente (T_A), ce qui montre que nous avons bien l'action d'une seule enzyme à la fois. Pour observer à nouveau l'activité de l'enzyme il nous suffit de faire tourner les aimants ($T_{\text{rot.}}$) ce qui raccourcit l'extension de la molécule.

La caractérisation de la topo Ia est de ce fait un peu moins facile que celle de la topo II. D'abord cette enzyme n'a pas besoin d'ATP, nous ne pouvons donc pas l'en priver pour ralentir son activité. D'autre part, elle agit dès que des bulles de dénaturation apparaissent. Or nous avons vu que celles-ci empêchent la formation des tortillons détectables par le raccourcissement de la molécule. Lorsque nous déroulons une molécule d'ADN à basse force, après quelques tours son extension décroît fortement lors de la formation des tortillons. Si nous ajoutons la topo Ia, rien ne se passe dans ces conditions. Si nous augmentons la force de traction, nous étirons les tortillons, l'extension de la molécule augmente et des bulles de dénaturation se forment. Dans ces conditions la topo Ia peut travailler, mais l'extension de la molécule reste maximale puisqu'il n'y a plus de tortillons. Pour observer le relâchement effectué par l'enzyme, il suffit de ramener la force appliquée à sa valeur initiale avant étirement. Lorsque l'enzyme a agi

le nombre de tortillons a baissé et l'extension de la molécule a augmenté par rapport à sa valeur initiale. Ces observations confirment que la topo la agit bien sur les bulles de dénaturation et qu'elle est inactive sur l'ADN sur-enroulé. Pour pouvoir observer directement l'activité de l'enzyme en temps réel, nous avons dû préparer une molécule d'ADN spéciale qui contient juste en un seul endroit une bulle de dénaturation artificielle : nous avons inséré deux simples brins qui ne sont pas complémentaires sur 12 bases, cette bulle est donc toujours ouverte. Elle le reste lorsque nous sur-enroulons la molécule sur laquelle se forme alors des tortillons qui provoquent la diminution de l'extension de la molécule. Nous obtenons ainsi une molécule où la topo la peut agir sur une seule petite bulle et qui forme des tortillons qui nous permettent de suivre le degré de torsion de l'ADN. La petite taille de la bulle garantit par ailleurs qu'une seule enzyme peut travailler à la fois. En tirant sur la molécule, nous refermons la bulle et nous gênons l'entrée d'une topo la. C'est en utilisant cette molécule et en ajustant la traction que nous avons pu ralentir l'activité de la topo la et observer le relâchement des super-tours un à un. Cette observation permet de confirmer que le mécanisme moléculaire impliqué par la topo la contrôle le passage des brins et ne correspond pas à une libre rotation de la molécule autour d'un brin [28].

La famille des topoisomérases est riche et il reste encore beaucoup à faire : comment la gyrase déroule-t-elle la double hélice ? Comment la topoisomérase IV reconnaît-elle le sur-enroulement du sous-enroulement ? Ce sont là des questions qui méritent des expériences précises.

VIII - Conclusions

Nous venons de montrer que de simples aimants placés au-dessus d'un microscope permettent de manipuler des molécules uniques d'ADN, pourvu qu'elles soient attachées à une microbille magnétique et à un substrat. L'observation de l'image de cette bille fournit le moyen de suivre son mouvement brownien et de déterminer la force de traction exercée tandis qu'il est possible de mesurer l'extension de la molécule sans qu'aucun contact mécanique ne soit nécessaire. Nous avons pu étudier le comportement élastique d'une molécule d'ADN soumise à une contrainte de torsion qui provoque la formation de structures torsadées réduisant l'extension de la molécule. Lorsque nous déroulons la double hélice, nous observons l'apparition de bulles de dénaturation dans lesquelles les deux brins d'ADN sont séparés.

En utilisant ces propriétés élastiques, nous pouvons détecter l'action des enzymes ADN polymérases et hélicases qui se déplacent le long de la molécule. Par ailleurs, nous observons l'action enzymatique d'une seule topoisomérase dont nous détectons les cycles individuels. Ces expériences illustrent à quel point les protéines sont des objets dynamiques

dont les changements de forme sont impliqués dans leur mode de fonctionnement.

Remerciements

Nous remercions l'ARC, le CNRS, l'ENS, les universités de Paris VI et de Paris VII et la communauté européenne (par son contrat MolSwitch IST-2001-38036) pour leur support financier.

Bibliographie

- [1] K. Svoboda, C.F. Schmidt, B.J.Schnapp, and S.M. Block. Direct observation of kinesin stepping by optical trapping interferometry. *Nature*, 365: 721–727, 1993.
- [2] J.T. Finer, R.M. Simmons, and J. A. Spudich. Single myosin molecule mechanics: piconewton forces and nanometer steps. *Nature*, 368: 113–119, 1994.
- [3] H. Noji, R. Yasuda, M. Yoshida, and K. Kinosita. Direct observation of the rotation of F_1 -ATPase. *Nature*, 386: 299–302, 1997.
- [4] M.S.Z. Kellermayer, S.B. Smith, H.L. Granzier, and C. Bustamante. Folding-unfolding transition in single titin molecules characterized with laser tweezers. *Science*, 276: 1112–1116, 1997.
- [5] E.L. Florin, V.T. Moy, and H.E. Gaub. Adhesion force between individual ligand-receptor pairs. *Science*, 264: 415–417, 1994.
- [6] M. Rief, M. Gautel, F.Oesterhelt, J.M. Fernandez, and H.E. Gaub. Reversible unfolding of individual titin immunoglobulin domains by afm. *Science*, 276: 1109–1112, 1997.
- [7] B. Essevaz-Roulet, U. Bockelmann, and F. Heslot. Mechanical separation of the complementary strands of DNA. *Proc. Nat. Acad. Sci*, 1994: 11935–11940, 97.
- [8] B. Maier, T. Strick, J-F. Allemand, C. Gosse, D. Bensimon et V. Croquette, Micromanipulation de molécules uniques d'ADN et de protéines. Dans « Energie et interface Physique Biologie ». Comptes rendus des Journées X-ENS/UPS de physique du 4 et 5 mai 2000. Département de Physique de l'école Polytechnique 91 128 Palaiseau.
- [9] J.-F. Allemand, D.Bensimon, V. Croquette, R. Lavery, B. Maier, and T. Strick. Le jokari moléculaire. *Biofutur*, 190: 26–30, 1999.
- [10] J.D. Watson and F.H.C. Crick. Molecular structure of nucleic acids. *Nature*, 171: 737–738, 1953.
- [11] A. Einstein. *Investigation of the Brownian theory of mouvement*. Dover Publication, 1956.
- [12] C. Bustamante, J.F. Marko, E.D. Siggia, and S. Smith. Entropic elasticity of λ -phage DNA. *Science*, 265: 1599–1600, 1994.
- [13] J.F. Marko and E.D. Siggia. Fluctuations and supercoiling of DNA. *Science*, 265: 506–508, 1994.
- [14] C. Bouchiat, M.D. Wang, S. M. Block, J.-F. Allemand, and V.Croquette;. Estimating the persistence length of a worm-like chain molecule from force-extension measurements. *Biophysical Journal*, 76: 409–413, 1999.
- [15] J.H. White. Self linking and the gauss integral in higher dimensions. *Am. J. Math.*, 91: 693–728, 1969.

- [16] J.F. Marko and E. Siggia. Statistical mechanics of supercoiled DNA. *Phys. Rev. E*, 52(3): 2912–2938, 1995.
- [17] C. Bouchiat and M. Mézard. Elasticity theory of a supercoiled DNA molecules. *Phys. Rev. Lett.*, 80: 1556–1559, 1998.
- [18] J.D. Moroz and P. Nelson. Torsional directed walks, entropic elasticity and DNA twist stiffness. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 94: 14418–14422, 1997.
- [19] T. Strick, J.F. Allemand, D. Bensimon, A. Bensimon, and V. Croquette. The elasticity of a single supercoiled DNA molecule. *Science*, 271: 1835 – 1837, 1996.
- [20] T. Strick, J.-F. Allemand, D. Bensimon, and V. Croquette. The behavior of supercoiled DNA. *Biophysical Journal*, 74: 2016–2028, 1998.
- [21] T. Strick, V. Croquette, and D. Bensimon. Homologous pairing in stretched supercoiled DNA. *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)*, 95: 10579–10583, 1998.
- [22] T. Strick, D. Bensimon, and V. Croquette. Micro-mechanical measurement of the torsional modulus of DNA. *Genetica, proceedings of NATO ARW on "Structural Biology and Functional Genomics"*, (1998), 106: 57–62, 1999.
- [23] B. Maier, D. Bensimon, and V. Croquette. Replication by a single DNA polymerase of a stretched single strand DNA. *PNAS* (submitted, 2000).
- [24] Single-molecule studies of the effect of template tension on T7 DNA polymerase activity Wuite, G. J.L. ; Smith, S. B. ; Young, M.; Keller, D.; Bustamante, C. *Nature* 404, (2000) pp 103-106.
- [25] T.M. Lhoman and K.P. Bjornson, *Ann. Rev. Biochem.* 65, 169-214 (1996).
- [26] J.C. Wang, Interaction between DNA and an *escherichia coli* protein ω , *J. Mol. Biol.* 55 (1971) 523–533.
- [27] "Single-molecule analysis of Topoisomerase II-DNA interactions", T.R. Strick, V. Croquette and D. Bensimon, *Nature* 404, 901-904 (2000), "Preferential relaxation of positively supercoiled DNA by Escherichia coli topoisomerase IV in single molecule and ensemble measurements" N.J. Crisona, T.R. Strick, D.Bensimon, V.Croquette and N.R.Cozzarelli, *Genes and Development* vol. 14 : 2881-2892 (2000).
- [28] N.H. Dekker, V.V. Rybenkov, M. Duguet, N.J. Crisona, N.R. Cozzarelli, D. Bensimon, V. Croquette. "The mechanism of type IA topoisomerases." *Proc Natl Acad Sci USA*. (2002).

Traitement des cancers par les radiations ionisantes

Jacques BALOSSO

CHU – Michallon

Université Joseph Fourier Grenoble-1, Grenoble

mél : JBalosso@chu-grenoble.fr

Les radiations ionisantes perturbent l'état de l'ADN cellulaire et entraînent une série de réactions cellulaires qui peuvent aboutir soit à la réparation des radiolésions, soit à la mort cellulaire, soit, très rarement, à la persistance de mutations dans une cellule survivante. Les cellules cancéreuses sont moins efficaces pour réparer ces radiolésions et l'organisation d'un tissu cancéreux est moins apte à compenser les pertes cellulaires qu'un tissu sain. Ainsi l'action répétée des séances de radiothérapie peut faire disparaître une tumeur en préservant suffisamment le tissu sain qui en est infiltré.

I - Introduction

La radiothérapie représente une des thérapeutiques curatrices majeures en cancérologie. Son mode d'action est maintenant bien compris. Cependant, sa mise en œuvre très technique reste mal connue du public et des décideurs qui ne lui ont pas toujours accordé la place qu'elle mérite en termes d'investissement et de formation, d'où le retard manifeste dont souffre cette discipline dans notre pays et ses besoins importants en compétences médicales et physiques pour les années à venir.

L'application actuelle de la radiothérapie est presque exclusivement dévolue au traitement des tumeurs cancéreuses. En effet, une tumeur cancéreuse est curable par radiothérapie à un certain nombre de conditions :

- elle doit être irradiée de manière homogène dans sa totalité, il faut donc qu'elle soit peu étendue,
- la dose nécessaire pour la détruire doit être «tolérable» par les tissus sains qui l'entourent.

Une approche exclusivement **ablatif** n'est pas adaptée au traitement d'un cancer étendu. En effet, une tumeur est souvent **infiltrante**, d'une manière géométriquement très complexe et l'exérèse de l'ensemble des prolongements d'une tumeur conduirait souvent à la destruction très importante d'un organe vital ou bien l'exérèse limitée à la partie visible de la tumeur laisserait en place de très nombreuses infiltrations, sources d'une rechute inéluctable.

Il faut pouvoir éliminer les cellules cancéreuses infiltrées parmi les cellules saines, sans détruire ces dernières. Il est donc nécessaire d'obtenir un **effet différentiel** entre les cellules tumorales à détruire et les cellules

saines à préserver. Une méthode purement ablative n'est donc pas capable de réaliser cet effet différentiel mais les radiations ionisantes peuvent le produire. Nous allons voir comment cela est possible.

II - Mécanisme d'action des radiations ionisantes au niveau cellulaire

Les mécanismes d'action des radiations ionisantes dans la cellule passent progressivement des phénomènes physiques à des phénomènes biochimiques puis à des phénomènes biologiques.

Les phénomènes physiques initiaux correspondent à l'arrachement d'électrons des atomes et des molécules rencontrés dans la matière vivante par les particules du rayonnement ionisant. L'essentiel de la matière vivante étant constitué d'eau, le phénomène dominant est représenté par la **radiolyse de l'eau** (figure 1). Il s'agit de cascades de réactions conduisant à la dégradation de la molécule d'eau pour conduire à un certain nombre de **radicaux libres** qui sont en réalité des espèces chimiques puissamment oxydantes.

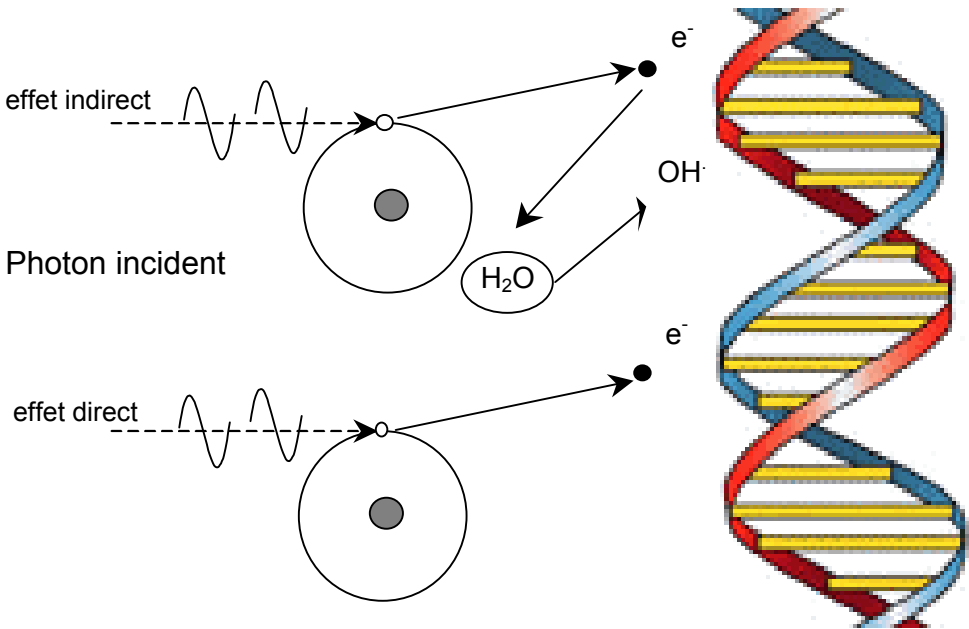


Figure 1 : Action indirecte par la création de radicaux OH• par radiolyse de l'eau et action directe des rayonnements ionisants sur l'ADN dans les cellules.

Ces espèces chimiques, pour celles qui ont une certaine durée de vie comme l'**ion hydroxyle** (OH•), vont pouvoir diffuser et attaquer les macro-molécules présentes dans la cellule. Ces radicaux libres sont sensibles à la présence de composés chimiques capables de les piéger,

chélateurs de radicaux libres, ou sont sensibles à l'**oxygène** qui, présent dans le milieu irradié, est capable d'augmenter la quantité de radicaux libres produits et de modifier, dans le sens d'une aggravation, les réactions d'oxydation des macro-molécules biologiques. Par l'action de ces radicaux libres sur les macro-molécules, l'irradiation agit de manière indirecte. Cet **effet indirect** est dominant pour les radiations produisant des ionisations diffuses à l'intérieur de la cellule et donc agissant essentiellement sur l'eau.

Il peut exister une action directe sur les macro-molécules par ionisation directe de ces cibles moléculaires telles que l'ADN. Cet **effet direct**, pour les radiations habituellement utilisées en radiothérapie (photons X et gamma, électrons), est minoritaire.

D'une manière générale, les modifications moléculaires produites dans l'ADN par les radicaux oxydants vont aboutir, selon leur complexité, à des **coupures simple-brin** ou à des **coupures double-brin** de la double hélice d'ADN. Les coupures simple-brin sont très largement majoritaires (plus de 99 % des lésions) et correspondent à l'aboutissement de très nombreuses variétés de modifications moléculaires provoquées par l'attaque radicalaire de l'ADN qui est la cible principale dans la cellule. Ces lésions simple-brin sont réparées rapidement, de manière exacte et complète, par la cellule qui est très bien équipée pour leur gestion. En effet, la cellule est soumise du fait de notre vie aérobie à une attaque radicalaire constante et *ménagée* à laquelle elle répond avec des moyens qui sont bien adaptés à la gestion des lésions similaires provoquées par une irradiation.

En revanche, lorsqu'il existe une **attaque radicalaire concentrée**, comme il peut s'en produire dans la toute dernière partie de la trajectoire des particules ionisantes, des **lésions complexes** de l'ADN peuvent se produire, conduisant à une coupure des deux brins d'ADN. Ces coupures double-brin peuvent être mal ou incomplètement réparées et lorsqu'il en subsiste une à deux dans une cellule après la réalisation des processus de réparation biologique, ces coupures double-brin résiduelles sont mortelles pour la cellule.

Les coupures double-brin sont effectivement les lésions létales que provoque l'irradiation ionisante dans les cellules vivantes.

Les modifications que peuvent apporter les agents modificateurs de l'effet indirect cités précédemment, à savoir les chélateurs de radicaux libres et l'oxygène, sont très importantes sur la sensibilité cellulaire. Pour prendre l'exemple de l'oxygène, des **cellules hypoxiques** vont avoir une **radio-résistance** pratiquement double de celle des cellules normoxiques. En d'autres termes, pour obtenir le même effet biologique, il faudra doubler la dose face à des cellules hypoxiques en comparaison avec des cellules normales. L'hypoxie cellulaire est un phénomène qui dans un organisme

humain n'existe pratiquement que dans les tumeurs. Et cette hypoxie est considérée depuis longtemps comme un des moyens principaux qu'ont les tissus tumoraux de résister à la radiothérapie.

L'efficacité biologique du rayonnement dépend aussi, de manière très importante, de sa **distribution spatiale microscopique**. En effet, nous avons vu que si les lésions étaient essentiellement dispersées, éloignées les unes des autres, peu importantes, elles allaient créer des coupures simple-brin que la cellule était capable de bien réparer. En revanche, si les ionisations, phénomènes primaires de l'irradiation, sont concentrées le long d'une trajectoire enveloppée d'une très forte densité d'ionisation, comme c'est le cas sur le passage d'ions (protons, mais surtout ions légers), la complexité des lésions dans la matière vivante sera plus importante et le nombre de coupures double-brin complexes augmentera.

Ainsi, pour la même dose déposée, un rayonnement provoquant des ionisations dispersées sera moins efficace qu'un rayonnement provoquant des ionisations très regroupées le long de trajectoires moins nombreuses.

On explique de cette façon la très forte différence d'efficacité biologique des particules lourdes en comparaison avec les photons ou les électrons. Les particules lourdes provoquant une forte densité d'ionisations autour de leur trajectoire sont appelées particules à haut **transfert d'énergie linéique** (TEL). L'application de radiations de haut TEL sur des populations cellulaires de radiosensibilités différentes met en évidence un phénomène tout à fait caractéristique qui est la **disparition progressive des différences de radio-sensibilité au fur et à mesure que le TEL augmente**. On observe une efficacité plus grande de ces rayonnements mais aussi progressivement la disparition de la différence de radio-sensibilité des cellules hypoxiques par rapport aux cellules normoxiques lorsqu'elles sont soumises à ce type de radiation. Cela représente donc un énorme avantage pour le traitement de tumeurs humaines qui renferment dans près de 60 % des cas des sites ou des foyers d'hypoxie.

III - Obtention d'un effet différentiel à l'échelle tissulaire

Finalement, tous les phénomènes que nous venons d'évoquer ne sont pas tellement différents, qu'ils s'exercent sur des cellules normales ou sur des cellules tumorales. Aussi voit-on très peu d'effet différentiel à l'échelon cellulaire. Comment l'obtient-on à l'échelle de l'organisme puisque c'est à ce niveau-là qu'on observe l'efficacité de la radiothérapie ? Les principes qui permettent d'obtenir cet effet différentiel sont au nombre de trois :

- **la restriction anatomique de l'irradiation au seul volume tumoral,**
- **le fractionnement et l'étalement,**
- **la pharmaco-modulation de la réponse tumorale à l'irradiation.**

1) Examinons tout d'abord **la restriction anatomique de l'irradiation au seul volume tumoral**. Cette restriction anatomique permet de protéger tous les autres tissus sains environnants et permet, bien évidemment, d'avoir plus d'efficacité sur la tumeur que sur les tissus sains. Plus cette restriction anatomique sera parfaite et plus on pourra protéger les tissus sains et augmenter la dose délivrée à la tumeur. Cette restriction anatomique a suivi les progrès technologiques qui ont accompagné la radiothérapie depuis son avènement. C'est le vaste problème de la **balistique** : c'est lui qui a entraîné la course vers les hautes énergies des années 50 aux années 80 où l'on a multiplié par 100 l'énergie moyenne des faisceaux utilisés ; c'est lui qui a entraîné le développement de la radiothérapie de conformation qui devient aujourd'hui le standard des traitements de qualité en radiothérapie et, enfin, c'est lui qui continue à proposer des améliorations pour l'avenir immédiat, par exemple avec la radiothérapie de conformation par modulation d'intensité (**RCMI**), technologie complexe nécessitant des appareils sophistiqués et une programmation entièrement informatisée du traitement.

Cette démarche connaît cependant des limites :

- l'imprécision des bords de la tumeur ; il n'est en effet pas toujours possible de s'adapter à des limites microscopiques, invisibles, voire extrêmement complexes,
- le mouvement des organes à irradier, qui nécessite des marges de sécurité et qui va obliger à inclure plus de tissu sain dans le volume irradié,
- les imprécisions du repositionnement du patient d'une séance à l'autre, qui nécessitent aussi le recours à des marges de sécurité.

Il existe des domaines de recherche concernant ces trois problèmes. En effet, l'imprécision des limites tumorales est sans arrêt réduite grâce aux progrès de l'imagerie médicale (scanner, IRM, TEP, fusion d'images, etc.). Les mouvements des organes peuvent être suivis ou gérés par des techniques spéciales d'interruption de l'irradiation lorsque le volume cible s'éloigne de sa position de référence. Il existe aussi des techniques d'asservissement de l'irradiation au cycle respiratoire du patient. Enfin, la précision du repositionnement peut faire des progrès grâce à l'utilisation d'une imagerie utilisée lors du repositionnement du patient à chaque séance, tirant parti de marqueurs ou de repères liés à la tumeur.

2) **Le fractionnement et l'étalement** (figure 2) d'une radiothérapie contribuent fortement à l'effet différentiel. En effet, le fractionnement du

traitement en séances espacées de 6 à 24 heures permet la **réparation des radio-lésions moléculaires** au niveau de chaque cellule. Il assure donc la survie des tissus à renouvellement lent. Le fractionnement est ainsi le point clé de la qualité d'une radiothérapie vis-à-vis des effets à long terme dans les tissus sains qui assurent la pérennité de l'organisme.

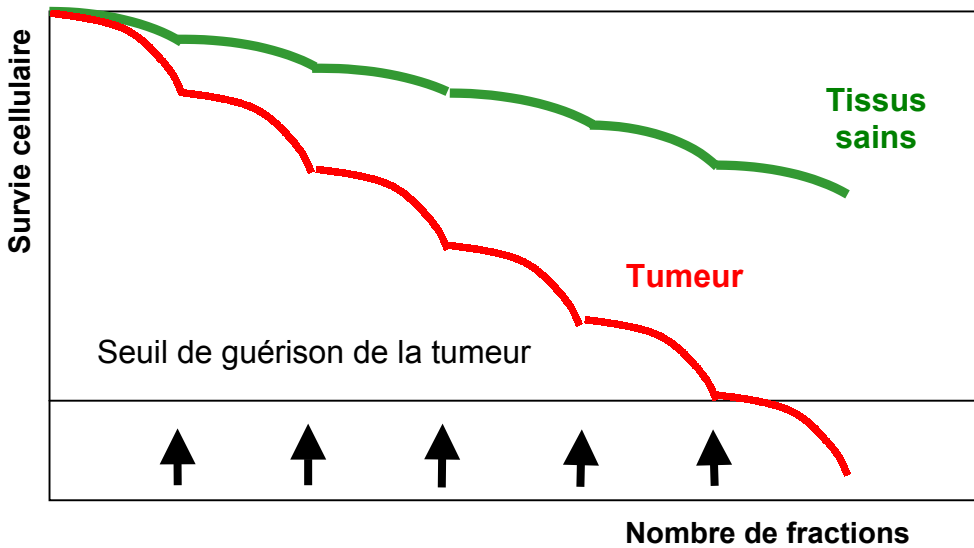


Figure 2 : Survie cellulaire en fonction de la progression d'une irradiation fractionnée, amplification cumulée de l'effet différentiel.

L'étalement du traitement sur plusieurs semaines permet, quant à lui, la réparation tissulaire par la **repopulation cellulaire**. Cet étalement assure la survie des tissus à renouvellement rapide et permet aux patients de supporter une irradiation. A noter que l'étalement favorise également la survie de la tumeur et il faut donc considérer un compromis entre un étalement trop long qui réduirait complètement les effets secondaires aigus d'une irradiation mais empêcherait le traitement efficace de la tumeur et un étalement trop bref qui serait certes plus efficace sur la tumeur mais exposerait le patient à des effets secondaires aigus insupportables.

Lors de ces mécanismes de réparation moléculaire et de restauration tissulaire, la répétition des fractions ou des séances d'irradiation va créer progressivement une accumulation des faibles différences qui existent au niveau cellulaire en terme de radio-sensibilité. Au bout d'un traitement de 25, 30 ou voire plus de fractions, la différence sera telle que les tissus sains, bien qu'affectés par l'irradiation, auront la capacité de se restaurer complètement après la fin de celle-ci, tandis que la tumeur profondément modifiée aura accumulée suffisamment de lésions cellulaires pour qu'elle finisse par disparaître complètement. Il faut noter que l'application optimale de ce compromis, basé sur une séance de

radiothérapie de 2 Gy par jour, est réalisée lorsque la sensibilité des tissus sains est légèrement plus faible que celle de la tumeur. Lors d'**une situation inverse**, le fractionnement du traitement aurait bien évidemment l'effet inverse et provoquerait une survie de la tumeur au prix de lésions du tissu sain, sans bénéfice pour le patient.

En cas de différence entre tumeur et tissu sain défavorable pour le tissu sain, la réduction de la différence (ici défavorable) représente un avantage sur le chemin de la destruction de la tumeur. Nous avons vu que les **radiations de hauts TEL** écrasaient les différences entre tissus et peuvent représenter, dans ces cas-là, une solution thérapeutique. Ces cas sont ceux des tumeurs naturellement radiorésistantes ainsi que ceux des tumeurs présentant des régions hypoxiques.

3) La troisième solution pour obtenir un effet différentiel réside dans **la pharmaco-modulation de la réponse tumorale à l'irradiation**. Des médicaments anti-cancéreux sont administrés en même temps que la radiothérapie pour renforcer l'effet différentiel. Leur mode d'action est de réduire la repopulation cellulaire tumorale pendant l'irradiation. En effet, ces chimiothérapies agissent préférentiellement sur les cellules en prolifération rapide. Elles permettent de **réduire la multiplication des cellules tumorales** au cours de l'étalement, facteur de résistance au traitement. Leur action se produit aussi sur les tissus sains à renouvellement rapide mais ceux-ci pourront cicatriser complètement après la fin de l'irradiation. Enfin, l'action de la chimiothérapie est très **complémentaire** de celle des radiations ionisantes puisque les cellules dans la phase de réplication de l'ADN (phase S) sont plus radio-résistantes et beaucoup plus chimio-sensibles.

Ainsi la destruction sélective du tissu tumoral par la radiothérapie permet la guérison locale authentique d'un nombre important de cancers. Cette démarche permet le plus souvent de conserver des organes et des fonctions qui seraient atteintes par la tumeur ou supprimées par des techniques ablatives, comme la chirurgie d'exérèse large qui est la méthode de référence du traitement des tumeurs au stade loco-régional.

Malgré tout, la radiothérapie reste encore fréquemment en échec pour trois raisons :

- les tumeurs sont souvent trop étendues pour permettre d'utiliser le potentiel d'une radiothérapie très localisée
- les tumeurs ont des conformations très complexes qui peuvent les situer au contact de structures vitales radio-sensibles, ce qui empêche de délivrer la dose nécessaire à la destruction de la tumeur
- enfin, et surtout, il existe comme nous l'avons vu des tumeurs qui sont, par nature ou du fait de l'hypoxie, radio-résistantes.

IV - Comment peut-on progresser et quelles sont les perspectives physiques pour la radiothérapie ?

Nous avons vu qu'un certain nombre d'obstacles à la réalisation idéale d'une radiothérapie sont de nature morphologique, mécanique, technique ou physique. Heureusement, des progrès toujours plus importants dans l'optimisation de la répartition anatomique de la dose sont encore possibles : la radiothérapie avec modulation d'intensité, des techniques informatiques complexes de planification inverse (un logiciel sophistiqué permettant de proposer une solution balistique à un choix de distribution de dose imposé), la dosimétrie par simulation de Monte Carlo qui permet de calculer les dépôts d'énergie dans des structures complexes (ce qui n'est pas toujours possible aujourd'hui), la dosimétrie en dose biologique pour mieux maîtriser les phénomènes de tolérance des tissus sains. Enfin, on développe toutes les techniques sophistiquées de contrôle, en temps réel, de la position de la cible à irradier.

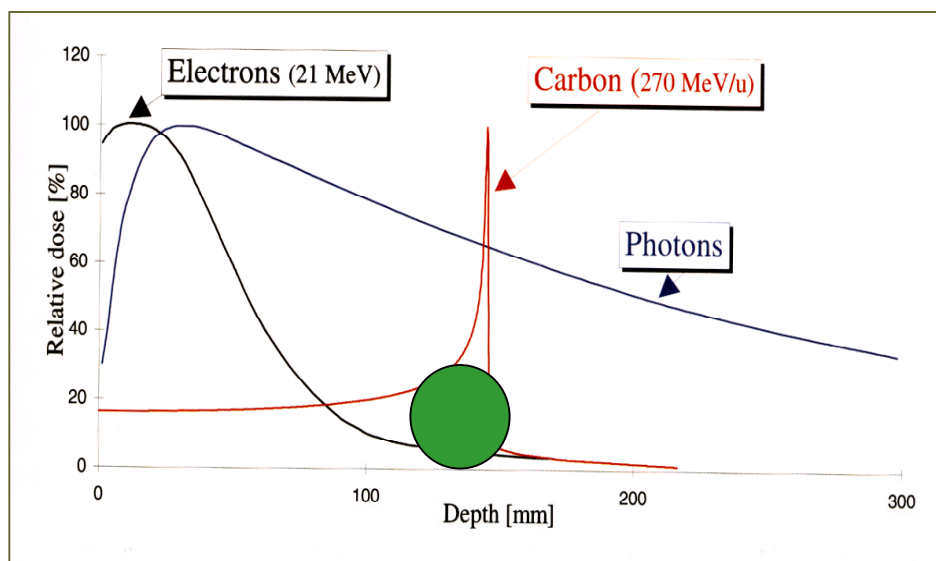


Figure 3 : Comparaison des dépôts de dose en profondeur de photons de haute énergie, d'électrons de 21 MeV et de noyaux de carbone de 270 MeV/u. Le disque foncé représente une tumeur. (GSI, Darmstadt, Allemagne)

Un autre grand domaine de développement porte sur l'utilisation des rayonnements de haut TEL (figure 3) qui, nous l'avons vu, ont des propriétés biologiques particulières en réduisant les possibilités de radio-résistance des tumeurs. De plus, les particules lourdes et chargées qui possèdent ces caractéristiques ont une balistique extrêmement favorable avec un pic de Bragg qui permet :

- de délivrer le maximum de dose au volume tumoral,
- de ne pas avoir de faisceau de sortie,
- d'avoir un couloir d'entrée sous-dosé par rapport à la zone à traiter.

Ceci représente des caractéristiques idéales et tout à fait opposées à celles des photons qui sont utilisées quotidiennement... Enfin, d'autres techniques relevant d'une physique à la pointe du progrès sont explorées, telles que l'utilisation du rayonnement synchrotron. C'est un rayonnement X d'énergie moyenne (10 à 150 keV) ayant une intensité un million de fois supérieur à celui d'un générateur classique de rayons X, ce qui permet d'envisager des concepts nouveaux d'irradiation par exemple en utilisant seulement une bande spectrale étroite pour exploiter certaines formes d'effet photo-électrique pour le traitement des tumeurs.

V - Conclusion

Nous voyons donc que beaucoup de possibilités de progrès dépendent de l'application de méthodes physiques, que ce soit au niveau du diagnostic par l'imagerie, au niveau de la sophistication balistique des traitements et même au niveau des progrès radio-biologiques, car ils passent par la mise en œuvre de radiations particulières qui sont en elles-mêmes des défis technologiques pour la physique.

Remerciements

Nous remercions Stéphanie Corde pour son aide dans la réalisation des figures et Madame Christine Ségura (CHU de Grenoble) qui a dactylographié le texte.

Bibliographie

Pour en savoir plus le lecteur est invité à consulter les sites Internet suivants :

<http://www.sfro.org>

<http://www.chu-rouen.fr/ssf/ther/radiotherapie.html>

<http://perso.wanadoo.fr/adasta/rayonsx.htm>

http://www.zoomcancer.com/tumeur_cancereuse.html

<http://www.lyon151.inserm.fr/CIJ-Cancer/traitement/radio.html>

Hadronthérapie par faisceaux d'ions légers : le projet ETOILE

Joseph REMILLIEUX et Marcel BAJARD
Institut de Physique Nucléaire
Université Claude Bernard Lyon 1, Villeurbanne
mél : j.remillieux@ipnl.in2p3.fr
m.bajard@ipnl.in2p3.fr

Dès 1947, R. Wilson proposa d'utiliser les propriétés balistiques et ionisantes des ions pénétrant dans la matière (pic de Bragg) pour traiter les tumeurs cancéreuses par «hadronthérapie». Cette idée ne fut exploitée cliniquement qu'à partir de 1954 à Berkeley aux USA, où l'on traita dans un laboratoire de physique jusqu'en 1993, date d'arrêt de l'accélérateur, plus de 2500 patients par divers faisceaux d'ions (du proton au néon). Depuis cet arrêt, de nombreux centres cliniques dédiés uniquement à la «protonthérapie» ont été implantés à travers le monde, notamment en France à Orsay et à Nice. Actuellement, seuls le Japon et l'Allemagne sont dotés d'installations plus lourdes permettant l'hadronthérapie par des faisceaux d'ions carbone, projectiles aux propriétés balistiques et radiobiologiques notablement plus performantes que celles des protons. Cinq projets d'implantation de centres cliniques d'hadronthérapie par ions carbone sont en cours en Europe (Allemagne, Autriche, France, Italie et Suède). La réalisation du centre allemand vient de commencer à Heidelberg. Quant au projet français ETOILE (Espace de Traitement Oncologique par Ions Légers dans le cadre Européen) il vient d'être publié et ce sont ses principales caractéristiques qui sont présentées ici : nombre de patients qui pourront être traités (1000/an), mode d'accélération (synchrotron de 75 m de circonférence), nombre de salles de traitement (3), coûts d'investissement (80 M€) et d'exploitation (12 M€/an), taille des équipes médicales (58 personnes) et techniques (16), site d'implantation de référence (pôle médical Est de Lyon).

I - Introduction et historique du projet ETOILE

Le projet français ETOILE (Espace de Traitement Oncologique par Ions Légers dans le cadre Européen) propose de construire un centre médical dédié au traitement de certaines tumeurs cancéreuses par faisceaux d'ions carbone issus d'un synchrotron. Ce sera un centre de soins et de recherche clinique. Le projet est fondé sur des principes biologiques et physiques forts, faisant apparaître les faisceaux d'ions carbone comme la meilleure modalité d'irradiation actuelle. Les premiers résultats cliniques obtenus depuis 1994 au NIRS (Japon) et depuis 1997 au GSI (Allemagne) ont démontré la faisabilité du traitement «en routine» par ions carbone avec des résultats prometteurs, en particulier pour les cancers inopérables et résistant aux rayonnements conventionnels. La technologie d'un tel synchrotron dédié à la médecine est parfaitement maîtrisée en France et en Europe, grâce à l'expérience des «grands instruments» de physique et à l'expérience clinique du GSI.

L'Université Claude Bernard Lyon 1 (UCBL) a pris l'initiative en 1999 de confier à des médecins et des physiciens la rédaction d'un cahier des charges pour la création d'un centre d'hadronthérapie par ions légers. Cette étude a reçu le soutien financier de l'ANVAR, de la Région Rhône-Alpes, de la Communauté Urbaine de Lyon et du Ministère de la Recherche.

L'avant-projet qui a suivi s'est concrétisé en 2002. Il est le fruit d'une collaboration étroite entre médecins (oncologues, radiothérapeutes des Hospices Civils de Lyon, du Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble, du Centre Léon Bérard de Lyon), scientifiques (physiciens, informaticiens, économistes des Universités de Lyon et Grenoble, radiophysiciens de Lyon, Grenoble, ainsi que de Nice et Orsay) et ingénieurs spécialistes des accélérateurs (CEA et CNRS dans le cadre d'une convention avec l'UCBL). Il a donné lieu à une première coopération européenne avec le Centre GSI à Darmstadt, le CERN à Genève et la fondation TERA à Milan, puis à la constitution d'un réseau européen (ENLIGHT) dans le cadre du 5^{ème} Programme Cadre de Recherche et Développement (PCRD).

Le centre ETOILE prévoit de traiter à terme au moins 1000 malades par an avec un recrutement national, voire européen.

II - Intérêt physique et biologique des faisceaux d'ions légers

Contrairement aux «rayons» conventionnels, photons et électrons, dont le profil de dose délivrée aux tissus décroît avec la profondeur traversée, celui des ions - incluant les protons - est caractérisé par un dépôt de dose élevé en fin de parcours (dénommé pic de Bragg), alors que

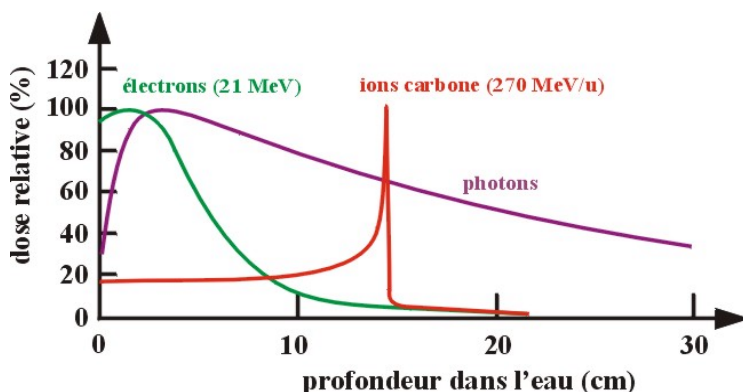


Figure 1 : Comparaison des dépôts de doses pour des photons, des électrons et des ions carbone dans de l'eau (milieu proche des tissus biologiques). On remarque la précision de ce dépôt en profondeur pour les ions carbone : c'est le pic de Bragg.

la dose déposée en amont (correspondant à la région du plateau), est beaucoup plus faible (figure 1). La position en profondeur du pic de Bragg est contrôlée par l'énergie incidente du faisceau, elle peut donc être modifiée, permettant de déposer le maximum d'énergie au sein d'un volume cible circonscrit (la tumeur), tout en limitant l'irradiation des tissus sains en amont et en protégeant les tissus sains en aval (figure 2).

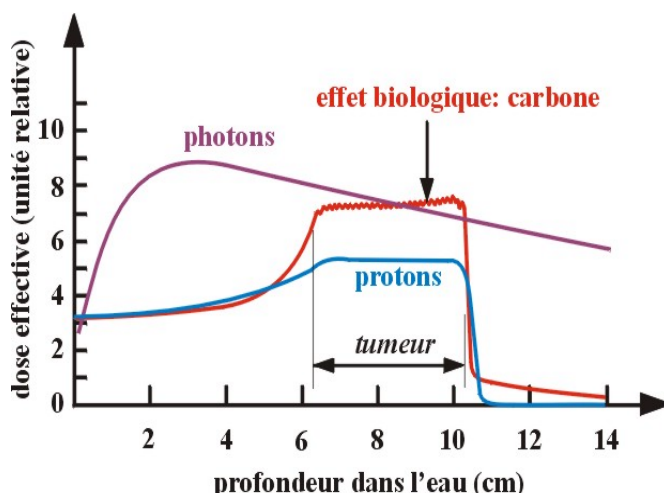


Figure 2 : Pour traiter en profondeur les tumeurs de grand volume, il est nécessaire de superposer des pics de Bragg de différentes énergies et de moduler leur intensité pour avoir une répartition homogène du dépôt de dose. On remarque que pour une même dose déposée en amont de la tumeur l'effet biologique dans celle-ci est plus important avec les ions carbone qu'avec les protons.

Ces propriétés, alliées à une faible diffusion latérale (figure 3), confèrent une excellente précision balistique aux ions carbone, au delà même de celle des protons.

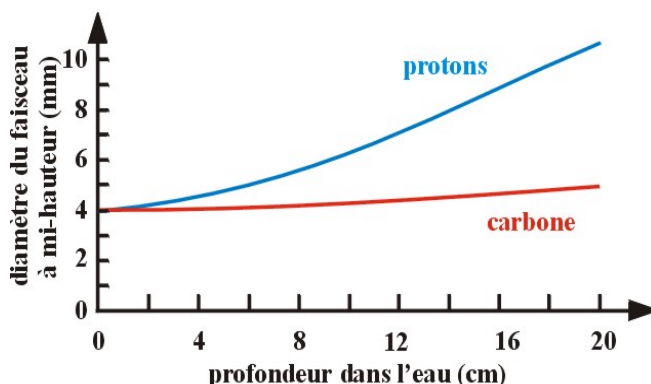


Figure 3 : A une profondeur donnée, la diffusion latérale d'un faisceau d'ions carbone est beaucoup plus faible que celle d'un faisceau de protons.

Les ions carbone ont de plus l'avantage d'atteindre, au pic de Bragg, un transfert d'énergie linéique (TEL) élevé dans la matière, bien supérieur à celui des photons et des protons. Ils créent ainsi des radiolésions cellulaires plus difficilement réparables, telles que des coupures « double-brin » de l'ADN. De plus, les tumeurs hypoxiques, dont la radiorésistance est caractérisée par le rapport OER (Oxygen Enhancement Ratio), seront plus efficacement stérilisées par ce rayonnement de haut TEL.

L'efficacité biologique liée aux dommages créés par des ions plus lourds que des protons est due à la très forte densité d'ionisation dans leurs traces (figure 4).

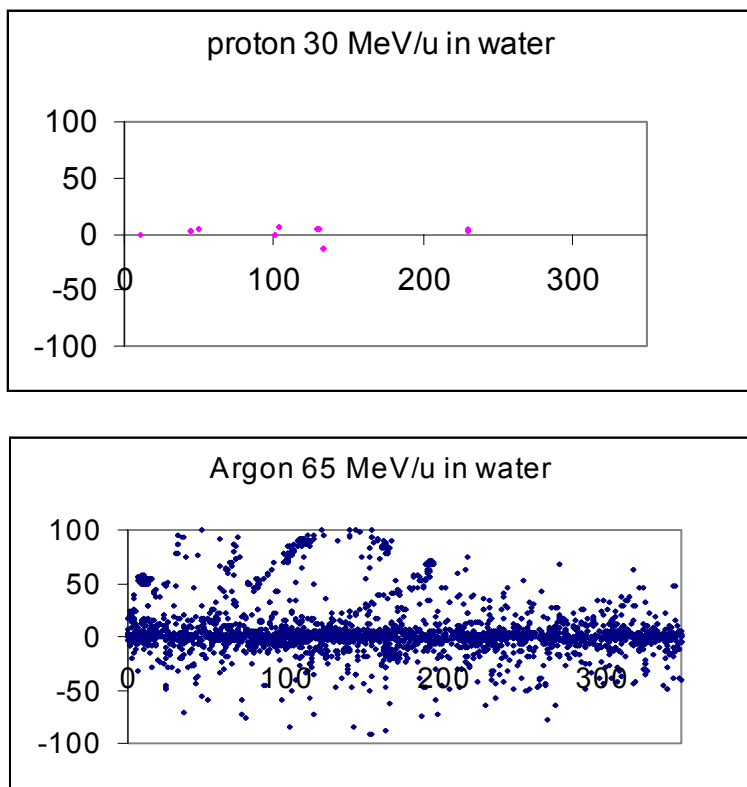


Figure 4 : Comparaison de la densité d'événements d'ionisations dans les traces d'ions argon et de protons aux mêmes échelles longitudinales (en nm) dans de l'eau. (B. Gervais *et al.*, GANIL, communication privée)

Ces propriétés radiobiologiques, caractéristiques du pic de Bragg étalé (figure 2), confèrent aux ions carbone une efficacité biologique relative élevée (EBR $\sim 1,5$ à 3) c'est-à-dire que le même effet biologique peut être obtenu pour une dose physique 1,5 à 3 fois plus faible qu'avec des photons.

De plus, la faible «réparabilité» des lésions cellulaires induites dans la tumeur par les ions carbone, associée à la grande précision balistique, réduit l'utilité du fractionnement du traitement. Ceci permet de diminuer le nombre de séances d'irradiation par rapport à une radiothérapie conventionnelle, avec des conséquences importantes pour le confort du patient et la réduction du coût total du traitement.

Enfin, la fragmentation partielle des noyaux du faisceau dans les tissus traversés produit, en faible quantité, des noyaux instables dont certains sont émetteurs de positon (par exemple du ^{11}C , de période 20 min). Cette propriété présente un intérêt car elle permet de visualiser par Tomographie par Emission de Positons (TEP) la distribution de dose pendant ou après le traitement et de vérifier la conformité de la dose délivrée à la dose prescrite. Cependant ces fragments nucléaires n'ont pas la même distribution de parcours que celle des ions non fragmentés. Ceci explique la queue de distribution observée sur la figure 5 en aval du pic de Bragg étalé. Cette queue n'existe pas, bien sûr, avec des protons et est d'autant moins négligeable que le projectile incident est plus lourd : il faudra en tenir compte dans le plan de traitement.

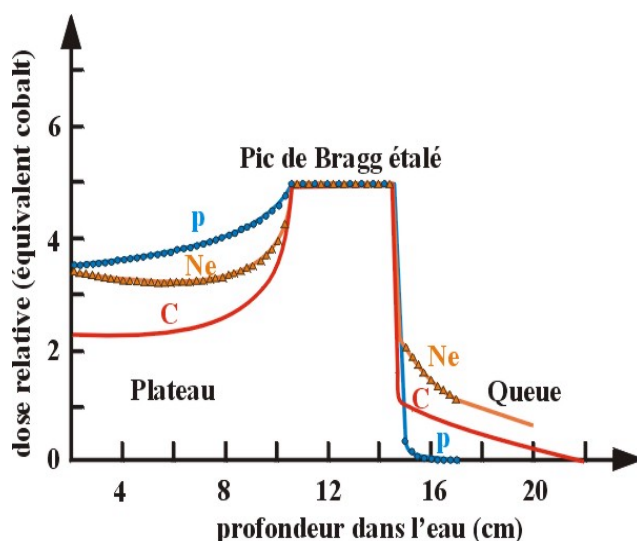


Figure 5 : Dose déposée pour différents faisceaux incidents.

III - Données médicales

Les premiers traitements chez l'homme ont été réalisés dès 1954 au Lawrence Berkeley Laboratory (USA) par protons et après 1957 par ions légers. Près de 2500 patients ont été traités, essentiellement par ions hélium et néon jusqu'en 1993 [1].

Le National Institute of Radiological Science (NIRS) à Chiba au Japon a été en 1994 le premier centre médical dédié au traitement des cancers par ions carbone. Des études cliniques d'escalade de dose et d'hypofractionnement [2, 3], exclusivement par ions carbone, ont été conduites chez plus de 1400 patients pour une large variété de tumeurs. Des taux de contrôle local de 70 à 100% à 3 ans pour certains cancers radiorésistants ont été rapportés (tableau 1). Les possibilités d'hypofractionnement ont été particulièrement explorées pour les cancers du poumon et du foie (4 fractions actuellement), sans majoration de la toxicité. Un deuxième centre médical dédié (HARIMAC) a été ouvert en 2001 dans la préfecture de Hyogo au Japon.

En Europe, seule l'Allemagne dispose d'un laboratoire de recherche (GSI, Darmstadt), comportant une ligne médicale avec un faisceau horizontal fixe, d'accès limité à quelques mois par an. Depuis 1997, plus de 140 patients ont été traités pour un cancer de la base du crâne [4, 5]. La survie sans récurrence à 1 an a été de 94% pour les 45 premiers patients (dont 6 préalablement irradiés par des photons) traités par ions carbone seuls ou en association avec des photons. Avec une médiane de suivi de 13 mois, 2 échecs en dehors du volume irradié ont été rapportés chez 37 patients traités exclusivement par ions carbone pour un chordome ou un chondrosarcome.

Les expériences de Berkeley, puis les données accumulées par le NIRS et plus récemment par GSI ont clairement démontré la pertinence du traitement de patients «en routine» par ions légers et la possibilité de diminuer le nombre de fractions, confirmant ainsi le gain thérapeutique escompté de l'hadronthérapie par ions carbone (tableau 1).

Localisation	Etudes (phase)	Nombre de patients	Doses (GyE)	Nombre de fractions /Durée en semaines	% de contrôle local à 2 ans	% de contrôle local à 3 ans	% de survie à 3 ans
Cancers pulmonaires NAPC^a stade I	9303 (I)	48	59,4 - 95,4	18/6	62	57	88
	9701 (I)	34	68,4 - 79,2	9/3	86	75	65
	9802 (II)	51	72	9/3	100		73
ORL	ORL-1 (I)	17	48,6 - 70,2	18/6	80 ^b		44
	ORL-2 (I)	19	52,8 - 64	16/4	71 ^b		44
	ORL-3 (II)	134	57,6 ou 64	16/4	61		42
Hépato- carcinomes inopérables	Foie-1 (I)	24	49,5 - 79,5	15/5	79	75	50
			54 - 69,6	12/3			
	Foie-2 (I)	82	48 - 58	8/2	83	79	45
			48 - 52,8	4/1			
Prostate T1-3 N0M0	Prostate-1 (I)	35	54 - 72	20/5	100 ^c	100 ^c	94
	Prostate-2 (II)	62	60 - 66	20/5	100 ^c	100 ^c	97
Sarcomes	Sarcomes (I)	57	52,8 - 73,6	16/4	73	68	50
Col utérin	Col utérin ^d 1-2 (I)	44	52,8 - 72	24/6	50 - 58	42	36 - 40
			pelvis : 44,8	pelvis : 16/4			
Tumeurs cérébrales	Astrocytome G2 (I)	11	50,4 - 55,2	24/6	50	22	
	Glioblastome (I)	36	66,8 - 72,4	33/7	17	16	

Tableau 1 : Taux de contrôle et de survie pour les patients traités par ions carbone exclusifs à Chiba – Japon (Extraits).

^a NAPC : non à petites cellules

^b Carcinomes épidermoïdes : 23 % ; autres histologies : 100%

^c Contrôle local évalué par biopsies

^d Carcinome épidermoïde Stade IIB-IVA

IV - La distribution de dose dans la tumeur

Pour irradier une tumeur épaisse en mode «actif», c'est-à-dire sans dégradation des qualités optiques du faisceau, il faut la «découper» en tranches virtuelles correspondant à des énergies de faisceau différentes (donc à des profondeurs de pic de Bragg différentes). Dans chaque tranche, il faudra déposer la dose prescrite en «balayant» le faisceau à l'aide d'aimants et en contrôlant l'intensité de chaque paquet de particules dans tous les volumes élémentaires présélectionnés (figure 6).

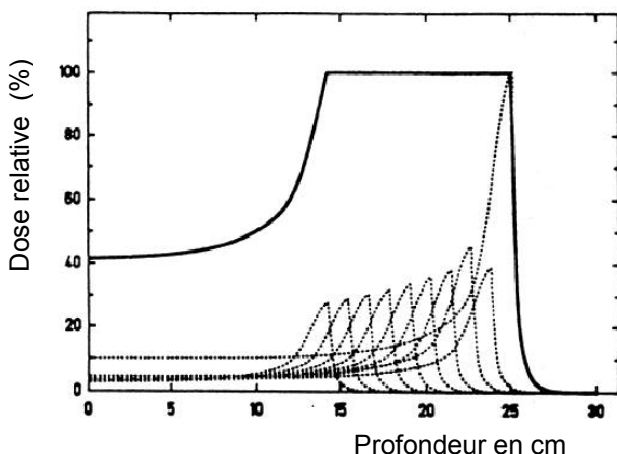


Figure 6 : Pic de Bragg étalé par modulation de l'énergie et de l'intensité d'un faisceau afin d'avoir un dépôt de dose homogène dans une tumeur. (J. Alonso, communication privée)

La qualité thérapeutique du traitement dépend de plusieurs étapes successives :

- l'imagerie de diagnostic permettant le contournage de la tumeur,
- le calcul du plan de traitement,
- la réalisation de l'irradiation,
- l'imagerie de contrôle.

1. Imagerie de diagnostic et contournage de la tumeur

L'imagerie médicale regroupe un certain nombre de techniques, d'outils et de méthodes qui ont pour objectif de visualiser l'anatomie et/ou le fonctionnement du corps humain pour en détecter les variations pathologiques. Ces techniques non invasives ont pour objectif essentiel, soit d'apporter une aide au diagnostic, soit de servir de référence anatomique au radiothérapeute ou anatomo-fonctionnelle au chirurgien.

La batterie des systèmes d'imagerie médicale repose actuellement sur trois grandes techniques et principes physiques (si l'on fait exception des ultrasons) : le scanner X ou tomomodensitomètre (CT), la résonance

magnétique nucléaire (IRM), la tomographie par émission de positons (TEP).

Le contourage de la tumeur par le médecin pourra s'appuyer sur une base de données anatomiques.

2. Plan de traitement

En radiothérapie classique, le scanner X constitue la technique de référence pour détecter et délimiter la région cible à partir de laquelle sont réalisés les calculs de planification dosimétrique. Cependant, dans le cadre des nouvelles techniques de radiothérapie conformationnelle et d'hadronthérapie, qui possèdent une bien meilleure balistique, il est nécessaire de définir plus précisément le volume cible en s'appuyant sur une imagerie anatomo-fonctionnelle.

En plus du scanner X qui constitue une excellente référence anatomique, il est donc souhaitable d'utiliser l'IRM qui présente un meilleur contraste tissulaire en particulier pour l'imagerie cérébrale. De plus, l'IRM peut apporter d'autres informations, soit de type métabolique avec la spectroscopie, soit de type fonctionnel avec l'IRM de perfusion ou d'activation qui permettent de mieux caractériser les régions tumorales fortement hétérogènes. Enfin, grâce à son excellente sensibilité et spécificité, la TEP constitue une excellente méthode de détection précoce des tumeurs primaires et secondaires.

Ces images de nature et de modalité différentes apportent des informations fonctionnelles et anatomiques complémentaires qui sont d'un grand intérêt pour caractériser la région tumorale et ainsi mieux définir le volume cible. Dans ce but, il convient de développer des logiciels de recalage, de fusion et de visualisation, adaptés au travail du radiophysicien.

La **planimétrie d'un traitement** consiste (à partir des données concernant les patients et des paramètres du faisceau) à :

- **calculer la distribution de dose sur ordinateur** : dans la tumeur (volume cible) et dans les tissus sains (organes à risque),
- **choisir et valider la technique d'irradiation** : nombre et direction des incidences de faisceau.

Il conviendra d'adapter les modules existants en radiothérapie et protonthérapie au cas des ions légers avec un souci de compatibilité avec les systèmes conventionnels de planimétrie, afin de pouvoir échanger des données avec un ensemble de centres partenaires.

Les spécificités des ions légers à prendre en compte (en plus des caractéristiques du faisceau) sont leur efficacité biologique [6] et la

production de fragments émetteurs β^+ qui devraient permettre de contrôler en ligne la dose déposée.

Le système de planimétrie du traitement doit également permettre de définir les caractéristiques du faisceau pour assurer l'irradiation conformationnelle de la tumeur. Il devra, dans le cas du contrôle actif du faisceau, établir les «pas» en énergie nécessaires pour couvrir l'ensemble de la lésion. Pour chaque «pas», c'est-à-dire chaque tranche du volume cible, le système devra également définir les caractéristique du balayage en x et y du faisceau.

Les problèmes à résoudre concerneront aussi :

- l'évaluation de l'erreur de positionnement,
- l'évaluation des mouvements externes et internes des organes en simulant leur comportement cinématique (respiration, battements cardiaques, ...).

3. Réalisation de l'irradiation

La distribution active de la dose dans la tumeur consiste à faire varier l'énergie de sortie de l'accélérateur à chaque cycle (quelques secondes) et à balayer un faisceau «pinceau» durant ce cycle, à l'aide d'aimants, tout en contrôlant son intensité point par point (figure 7).

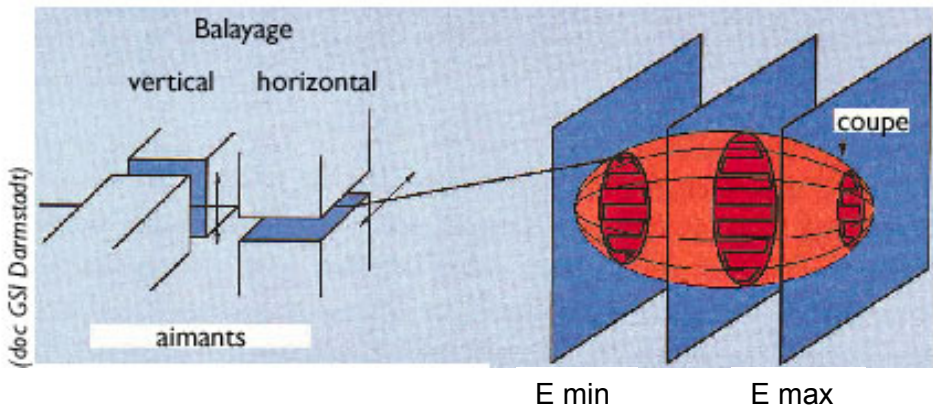


Figure 7 : Principe d'irradiation d'une tumeur par plans successifs et balayage de faisceau.

Dans certain cas il peut être utile de faire appel à un mode de distribution «passif» d'un faisceau d'énergie fixe. Il va s'agir de le ralentir et de le disperser en angle à l'aide d'éléments massifs, de l'homogénéiser et de réaliser une partie mécanique de compensation appelée «bolus» pour tenir compte de la forme de la tumeur et réaliser ainsi une irradiation conformationnelle.

4. Imagerie de contrôle

L'utilisation d'une caméra TEP, permettant la localisation des fragments émetteurs β^+ et donc le calcul de la dose déposée dans le volume cible, pourra se faire soit en ligne pendant l'irradiation soit hors ligne après l'irradiation.

L'enregistrement «hors ligne» constitue une solution plus simple dans la mesure où une caméra TEP commerciale convient. Si cette solution bénéficie d'un temps d'acquisition pouvant être plus long car réalisé en post-irradiation, elle souffre de l'absence d'information *in situ* et de retour immédiat pendant l'irradiation.

L'enregistrement «en ligne» donne une information en temps réel sur la qualité de l'irradiation mais nécessite la mise au point d'une caméra dédiée à l'hadronthérapie (angle solide couvert plus grand et rapidité d'acquisition supérieure).

IV - Cahier des charges fonctionnelles pour le centre de traitement ETOILE

Les tableaux 2 et 3 résument les exigences définies par les médecins pour la construction d'un centre de traitement et les conséquences techniques préliminaires afin de pouvoir :

- traiter des tumeurs **profondes**,
- optimiser la machine pour les **ions carbone** tout en ayant la possibilité d'accélérer **d'autres types d'ions**,
- prévoir une **irradiation conformationnelle** dont la qualité et la continuité soient assurées,
- obtenir un dépôt aussi **homogène** que possible de la dose dans le **volume cible**,
- **repérer et repositionner** (le patient et la tumeur),
- régler le point d'impact du faisceau de façon aussi **précise et reproductible** que possible,
- **mesurer en ligne** et de différentes manières les doses déposées,
- **optimiser** le parcours du patient.

Projectiles	protons jusqu'à ^{16}O
Temps de changement entre les deux types de particules	< 1 heure
Profondeur de pénétration des ions (p, C)	2 à 27 cm dans l'eau
Dimensions maximales de la surface d'irradiation (perpendiculaire à la direction du faisceau incident)	20 x 20 cm ²
Débit de dose physique maximal continu	2 Gy avec un temps de traitement d'une minute par litre
Distribution de la dose dans le volume cible (I et E max) - chute distale 100 % à 30 % - pénombre latérale 80 % à 20 %	inférieure à 3 mm inférieure à 2 mm
Précision latérale de la direction du faisceau incident	2 mm au niveau du volume cible
Diamètre du faisceau à mi-hauteur	variable de 4 à 10 mm
Résolution spatiale du champ d'irradiation	~ 2 mm
Sécurité du patient : - temps d'arrêt rapide - homogénéité de la dose dans le volume cible - précision de la dose déposée	200 μs écart tolérable $\pm 2,5 \%$ $\pm 2,5 \%$
Technique active d'irradiation avec le faisceau : - énergie rapidement variable - intensité rapidement variable - faisceau « pinceau » variable en position Etudier la possibilité d'avoir aussi une irradiation passive	Oui Oui Oui Oui
Nombre de salles ¹	- 2 salles de traitement avec faisceau horizontal - 1 salle de traitement avec faisceau vertical (avec la possibilité d'installation d'un faisceau horizontal supplémentaire)
Dosimétrie (mesures) minimale juste avant le patient (par ligne de faisceau)	Chambres d'ionisation - 2 pour le contrôle de la position et de la forme du faisceau - 2 pour le contrôle de la dose - 1 pour la redondance
Précision du positionnement du patient par rapport au faisceau, avec une contention appropriée	Tête : 1 mm Corps : 2 mm
Hypothèse de travail avec trois salles de traitement	1000 patients traités par an en routine après trois ans de fonctionnement 15 séances en moyenne par patient 220 jours annuels de traitements

Tableau 2 : Cahier des charges médicales.

¹ Au cours de l'avant-projet est apparu l'intérêt de mener la pré-étude d'une salle de traitement avec tête rotative isocentrique.

Accélérateur à énergie variable	Synchrotron
Sources	2 sources d'ions pour ions carbone et protons (+ possibilité d'utilisation d'autres ions) type ECRIS (Electron Cyclotron Résonance Ion Source)
Energies finales pour une pénétration de 2 à 27 cm dans l'eau	C : 85 à 400 MeV/uma p : 50 à 200 MeV
Variation de l'énergie et de l'intensité	La variation de l'énergie nécessite des réglages rapides de l'accélérateur (environ 1 seconde)
Variation de la profondeur de pénétration	Par pas de 1 mm si la pénétration est inférieure à 20 cm Par pas de 1,5 mm si la pénétration est supérieure à 20 cm
Dimensions du faisceau (largeur totale à mi-hauteur)	Spot de 4 à 10 mm de diamètre ajustable par pas de 2 mm au niveau du patient
Intensité typique du faisceau pour un débit de dose physique de 2 Gy/mn dans un litre	Nombre maximal en particules par déversement au niveau du patient : $^{12}\text{C}^{6+}$: $\sim 4 \times 10^8$ protons : $\sim 1 \times 10^{10}$ valeurs typiques en balayage actif (réf : PIMMS [7])
Variations pour chaque énergie en fonction du plan de traitement et de la conformation de la tumeur	Variation d'intensité $I_{\text{max}}/I_{\text{min}} = 1000$ Durée du cycle : 1 à 10 secondes
Fluctuation de la position du faisceau à l'isocentre pendant le cycle d'extraction	Inférieure à $\pm 15\%$ du diamètre du spot à mi-hauteur
Balayage latéral du faisceau dans la salle de traitement	Aimants de balayage horizontal et vertical
Angles d'entrée du faisceau facilement variables	Tête rotative isocentrique à la place du faisceau fixe vertical
Reproductibilité de la délivrance de la dose, son homogénéité et ses contours	Contamination du faisceau inférieure à 1 % Surveillance en ligne précise des paramètres du faisceau Surveillance en ligne du spectre des ions de la source
Arrêt rapide du faisceau	Déviateur rapide en 200 μs Arrêt faisceau mécanique associé

Tableau 3 : Caractéristiques techniques.

VI - Système accélérateur

Le projet technique [8] a été étudié pendant deux ans en partenariat entre les Universités Claude Bernard à Lyon et Joseph Fourier à Grenoble, le CEA/DSM et le CNRS/IN2P3.

Le projet ETOILE prévoit la construction d'un synchrotron de 24 m de diamètre, permettant de délivrer des faisceaux d'ions légers d'énergie variable (de 80 à 400 MeV/nucléon pour les ions carbone) à une profondeur maximale de 27 cm dans les tissus. Il est prévu de réaliser trois salles d'irradiation : deux avec un faisceau horizontal, une avec un faisceau vertical et un faisceau horizontal. Une option a été étudiée pour remplacer

cette dernière salle par une salle avec une tête isocentrique (gantry) permettant de faire tourner le faisceau autour du patient. Le bâtiment principal couvrira une superficie d'environ 60 m x 60 m. Une extension est possible pour une salle de traitement supplémentaire.

1. Production des ions

La technologie des sources d'ions est acquise et permet de fournir les espèces et les intensités requises, que ce soit pour les protons, l'hélium, l'oxygène ou le carbone. L'injection peut utiliser deux sources de type «ECR» (Electron Cyclotron Resonance) qui satisfont à l'intégralité du cahier des charges pour les espèces d'ions considérées. Ces sources peuvent être à aimants permanents et représentent alors le meilleur choix en termes de coût et de fiabilité puisqu'elles n'utilisent ni alimentation de puissance ni système de refroidissement haute pression.

2. Pré-accélération

Le système d'injection représenté figure 8 va de la production des ions dans deux sources jusqu'à l'entrée dans le synchrotron en passant par une ligne d'analyse basse énergie, un accélérateur linéaire («RFQ» + «linac»), un éplucheur et une ligne moyenne énergie.

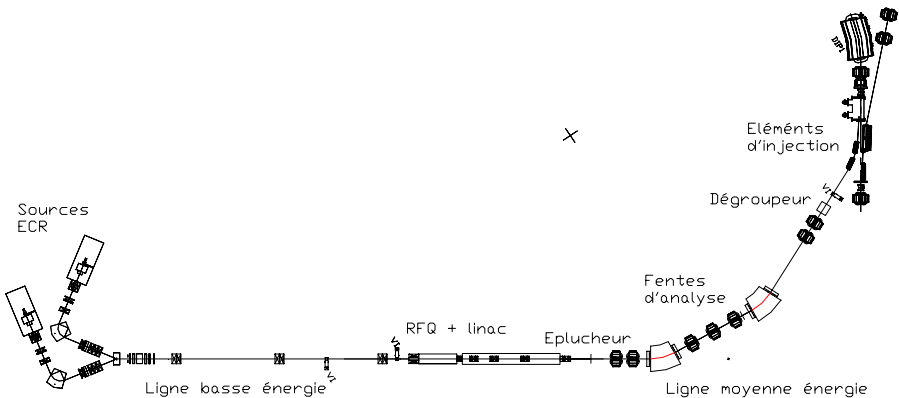


Figure 8 : Eléments du système d'injection dans le synchrotron.

3. Synchrotron

C'est le type d'accélérateur qui répond le mieux au cahier des charges. Il permet de satisfaire les spécifications médicales et d'obtenir la souplesse requise. Son utilisation médicale a été démontrée par de nombreuses réalisations, par exemple en Allemagne, au Japon ou aux Etats-Unis. Il est adopté pour toutes les nouvelles générations d'installations dédiées au traitement du cancer par ions légers, quand les

énergies sont de l'ordre de 400 MeV/uma (projet de Heidelberg HICAT, projet italien CNA, projet suédois de l'Institut Karolinska, projet autrichien Med-AUSTRON). Le projet ETOILE s'est appuyé sur l'étude préliminaire détaillée «PIMMS» de synchrotron médical effectuée au CERN [7]. Le choix du **synchrotron** a été motivé par les considérations suivantes :

- bonne adaptation pour l'accélération d'ions ^{12}C à 400 MeV/A ($B\rho \sim 6,35 \text{ T} \times \text{m}$),
- grande souplesse en variation d'énergie (distribution active de la dose),
- flexibilité du cycle d'accélération (tumeurs mobiles et/ou non connexes),
- « gating » possible : déclenchement de l'irradiation sur critères physiologiques,
- commutation rapide d'une espèce d'ions à l'autre,
- fonctionnement en impulsions indépendantes (chargement, accélération, déversement),
- fiabilité élevée.

Ce choix a été traité de manière extensive dans de nombreuses études techniques réalisées au cours des 10 dernières années et à l'occasion de nombreuses initiatives proposant une installation hospitalière dédiée [9-13].

Le synchrotron fonctionne de manière pulsée afin de répondre aux contraintes de souplesse déjà présentées. Le cycle de la machine (figure 9) peut être varié de déversement en déversement et selon les caractéristiques du volume à traiter (les valeurs données ne sont que des ordres de grandeur).

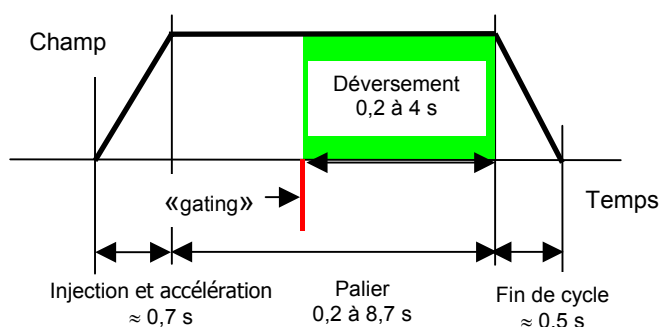


Figure 9 : Cycle du champ dans les aimants du synchrotron.

4. Distribution du faisceau

La structure générale de l'installation d'hadronthérapie ETOILE est donnée figure 10. Après une pré-accelération, les ions sont injectés dans le synchrotron pour être accélérés jusqu'à leur énergie nominale. Les particules sont alors extraites et transportées le long des lignes de faisceau jusqu'aux salles de traitement qui sont desservies par une structure dite en «arête de poisson». Le système de balayage actif est situé en extrémité de ligne et peut être, si besoin, remplacé par un système passif de distribution.

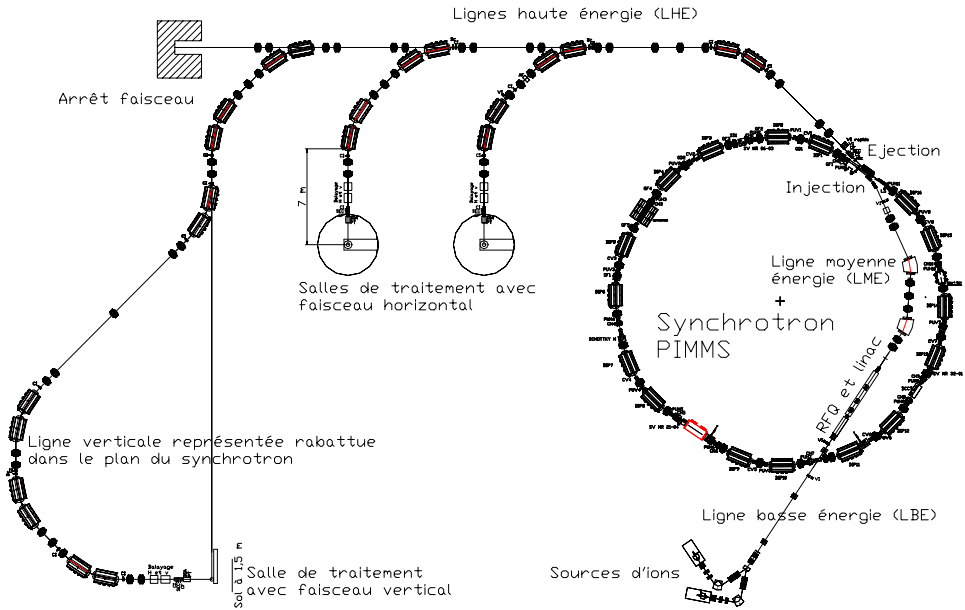


Figure 10 : Structure générale de l'installation.

VII - Définition du bâtiment

1. Site

L'implantation de référence du centre à Lyon est le site du Vinatier, à proximité immédiate d'hôpitaux (l'hôpital neurologique, l'hôpital cardiologique, le futur hôpital Mère-Enfant, le centre régional de lutte contre le cancer Léon Bérard, l'hôpital Edouard Herriot), de nombreuses cliniques, d'unités de recherche et d'un pôle d'imagerie médicale. Ce site à l'est de Lyon, proche des autoroutes et de l'aéroport de Lyon Saint-Exupéry, est d'un accès particulièrement facile.

2. Niveau traitements et niveau services

Les plans des installations du centre d'hadronthérapie sont représentés figure 11 (plans du **niveau traitements** et du **niveau services**). La salle du synchrotron mesurera à elle seule environ 30 m x 30 m.

Pour le génie civil, ce sont les études de radioprotection qui déterminent les épaisseurs des protections biologiques aussi bien pour les murs latéraux que pour la dalle située au plafond du synchrotron (effet de ciel).

Selon les spécifications des médecins, l'accueil est au même niveau que les salles de traitement et la machine. Le parcours du patient a été déterminé afin d'éviter les rencontres soit avec les autres patients soit avec les techniciens ou les chercheurs.

L'étage du bâtiment est destiné à accueillir les services médicaux (salles d'examen, scanner et IRM) et les services généraux ainsi que les auxiliaires (distribution électrique, réfrigération, ventilation). Il recevra aussi toutes les alimentations de puissance afin de minimiser leur distance avec les équipements.

La distribution du faisceau en arête de poisson permet une évolution aisée du bâtiment et en particulier l'implantation optionnelle d'une tête isocentrique (Gantry), montrée figure 12.

VIII - Contrôle-commande de la machine

Le contrôle-commande (figure 13) doit répondre aux spécifications suivantes :

- AGIR depuis les sources d'ions jusqu'aux salles de traitement,
- RÉGLER et surveiller les paramètres, gérer les sécurités, réaliser l'interface avec les opérateurs,
- RÉALISER la **fonction essentielle de modulation**, impulsion par impulsion, des paramètres permettant de régler l'énergie, le diamètre du faisceau et l'intensité au niveau du patient,
- INTERFACER les équipements par des standards d'acquisition (VME, VXI), les actions des opérateurs, la gestion des bases de données et l'archivage. Des bus de terrain pour les boucles optiques de la source, pour l'instrumentation HF, pour les alimentations, seront utilisés,
- CONTRÔLER par des logiciels spécifiques en temps réel.

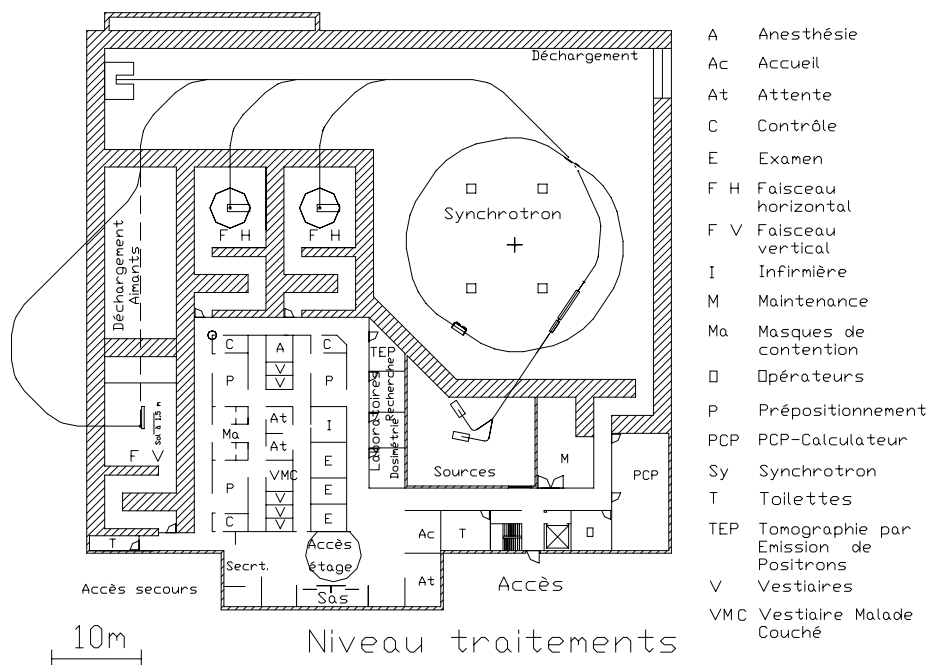


Figure 11 : Plans du bâtiment ETOILE.

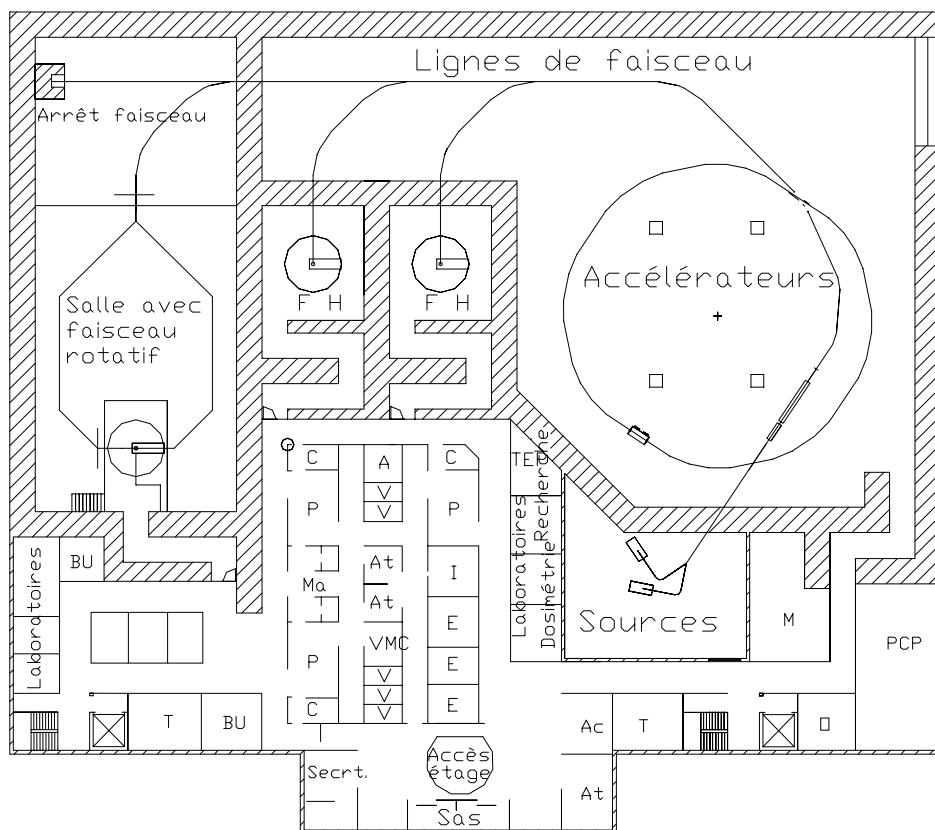


Figure 12 : Solution avec GANTRY.

IX - Qualité du traitement

Elle sera assurée par les actions suivantes :

- tests quotidiens sur le faisceau réalisés en Assurance-Qualité,
- positionnement des patients et contrôle de la position par imagerie X,
- détection des mouvements, synchronisation respiratoire,
- exécution du plan de traitement,
- mesure des doses déposées,
- mesure en ligne de l'intensité, du centrage et de la forme du faisceau,
- imagerie TEP de la dose effectivement déposée.

1. Contrôle de l'irradiation

Le système de contrôle du traitement doit réaliser les tâches suivantes afin d'assurer la qualité du traitement :

- SÉLECTIONNER le planning de traitement à partir de la BASE DE DONNÉES du patient,
- LANCER les REQUÊTES auprès du système de commande et contrôle de l'accélérateur en vue d'obtenir les CARACTÉRISTIQUES du faisceau correspondant à ce planning de traitement,
- RÉGLER et contrôler les aimants de balayage,
- CONTRÔLER et maîtriser l'intensité et la position du faisceau,
- CONTRÔLER l'ARRÊT/MARCHE selon l'avancement du traitement,
- INTERFACER la communication avec les opérateurs médicaux,
- ARCHIVER toutes les informations utiles concernant le traitement.

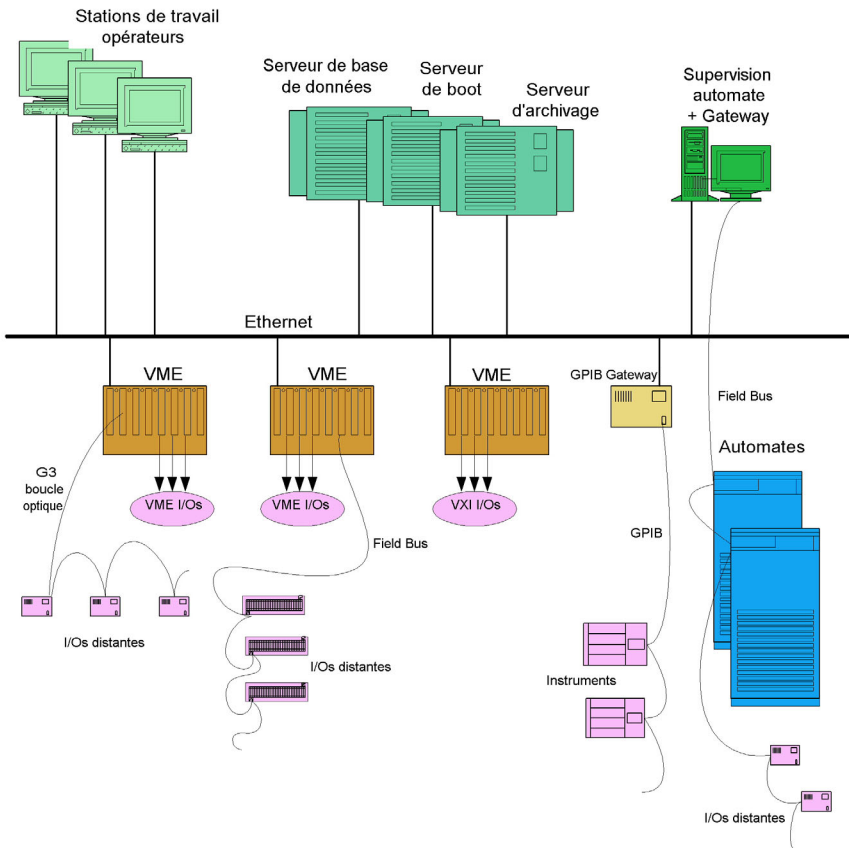


Figure 13 : Structure du commande-contrôle.

2. Qualification pour le traitement

Les diagnostics de dosimétrie en temps réel seront calibrés à partir de chambres d'ionisation étalonnées. Pour cette calibration, des chambres d'ionisation de référence seront placées dans un volume d'eau. Les chaînes de mesures de référence (chambre d'ionisation, câble, électromètre) seront étalonnées par un laboratoire central agréé.

Pour un traitement donné, on réalisera au préalable une série de mesures sur un fantôme d'eau pour valider la configuration-machine. Des mesures peuvent également être effectuées à l'aide de fantômes solides (type plaques en plastique) et de chambres d'ionisation à plaques parallèles (PPIC) et multifils (MWPC). Des développements sont actuellement menés sur des gels polymères pour donner une cartographie tridimensionnelle de la dose déposée.

3. Contrôle de dose en temps réel au niveau du patient

Lors du traitement, le contrôle en temps réel et au niveau du patient sera garanti par un ensemble de chambres à fils (mesure de profil) et un ensemble de chambres d'ionisation (contrôle de l'intensité et de la dose).

La Tomographie par Emission de Positons pourra indiquer la direction de la trace du faisceau et ultérieurement la dose déposée, après reconstitution du parcours de tous les fragments émetteurs de positon (en fonction du tissu rencontré, de l'énergie et de la nature du faisceau).

De nouveaux détecteurs, en cours de mise au point, seront à valider afin de pouvoir être utilisés en redondance pour le contrôle de l'irradiation.

X - Flux de patients

Le scénario de fonctionnement en phase de routine est le suivant : ouverture 260 jours par an (dont 220 jours pour les traitements et 40 pour la maintenance) ; 5 jours par semaine ; 14 heures par jour (dont 11 pour la réalisation des irradiations). Avec une hypothèse prudente d'une durée moyenne de 30 minutes par séance, près de 15000 séances devraient être réalisées chaque année. Le personnel médical et technique prévu pour assurer ce nombre annuel de séances est de 74 personnes.

XI - Coûts et délais

Le coût d'investissement prévu dans l'option sans gantry est de 80 M€ (tableau 4). Il devrait pouvoir être réduit par la réalisation d'études détaillées communes entre les partenaires européens. L'option avec gantry impliquerait un surcoût de 8 M€.

Désignation	Investissements hors taxes prix novembre 2001 scénario sans tête rotative isocentrique (M€)
Production des ions, accélérateur linéaire et lignes de faisceau basse énergie.	8,83
Synchrotron	6,45
Distribution du faisceau et système de balayage	4,68
Contrôle	8,25
Bâtiment et infrastructures (dont maîtrise d'œuvre)	23,2
Equipements des salles	8,23
Coût du personnel de réalisation	15
Aléas 7%	5,22
Coût total (M€)	79,86

Tableau 4 : Coûts d'investissement.

Le coût d'exploitation sera, selon les hypothèses retenues, de 11 à 14 M€ par an. Ce coût inclut l'amortissement du déficit structurel de montée en charge et le remboursement des emprunts. Son financement, dans le cadre du système de santé, devra prendre en compte le caractère national du centre. Avec l'hypothèse très prudente d'une moyenne de 15 séances par traitement, le coût moyen pour chacun des 1000 patients traités serait alors de 11 à 14K€. Les possibilités de diminution du nombre de séances, en cours d'exploration au NIRS (Japon), devraient permettre de réduire de façon importante le coût moyen par traitement et de permettre un plus large accès à cette thérapie innovante.

Calendrier

2003 : décision de principe, lancement des études du bâtiment
 2003-2004 : décision définitive, engagement du bâtiment
 2004 à 2006 : réalisation
 2007 à 2010 : tests, premiers patients, puis montée en charge
 2011 : fonctionnement en routine

XII - Réseau entre les projets européens

Il existe actuellement cinq projets européens de centres médicaux dédiés à l'hadronthérapie par ions carbone². La construction du centre allemand de Heidelberg a commencé en 2002.

² Heidelberg (Allemagne), Milan (Italie), Stockholm (Suède), Vienne (Autriche), Lyon (France)

Un réseau européen entre ces projets (ENLIGHT³) a été initié en 2001 par l'ESTRO⁴ et l'EORTC⁵. Des groupes de travail ont été créés en 2002 pour coordonner les projets médicaux (épidémiologie, évaluation clinique), l'évaluation médico-économique et les projets de recherche : radiobiologie, dosimétrie, imagerie, techniques de production du faisceau et de délivrance de la dose. Le développement de ces programmes de recherche au niveau européen aura d'importantes retombées pour l'évolution de l'ensemble de la radiothérapie et pour la santé publique.

XIII - Recherches et formations accompagnant le projet ETOILE

Les recherches associées au projet -outre les recherches cliniques- portent sur des aspects technologiques et biologiques.

Des laboratoires de Lyon et de Grenoble travaillent à réaliser des outils d'aide informatique pour le suivi de l'irradiation des tumeurs d'organes en mouvement (poumon, foie, ...). Un réseau de chercheurs (physiciens nucléaires, physiciens médicaux, radiobiologistes de l'INSERM et du CEA) est constitué pour mettre en commun des travaux sur la modélisation des effets biologiques des ions carbone et sur les mécanismes spécifiques, moléculaires et génétiques de la radiorésistance. L'étude d'une caméra TEP évoluée, dédiée au fonctionnement en ligne pour l'hadronthérapie, est menée par des chercheurs du CEA, du CNRS/IN2P3 et du CERMEP de Lyon.

Cette coopération entre physique et médecine se traduira aussi par la création, à la rentrée 2004, d'un master Rhône-Alpin de physique médicale.

XIV - Groupe de projet

La structure actuelle du groupe ETOILE est la suivante

<p><u>Comité de Direction</u></p> <p>Jean-Pierre GÉRARD, Directeur Médical Joseph REMILLIEUX, Directeur Physicien Joël ROCHAT, Manager Marcel BAJARD, Direction Technique Claude DETRAZ, Mission Europe</p>	<p><u>Comité de Projet</u></p> <p>Jean-Pierre GÉRARD Joseph REMILLIEUX Joël ROCHAT MARCEL BAJARD Michel BOLLA Marcel LIEUVIN Yves TERRIEN Yves DÉCLAIS Marcel JACQUEMET</p>
---	---

³ European Network for Research in Light Ion Therapy

⁴ European Society for Therapeutic Radiology and Oncology

⁵ European Organisation for Research and Treatment of Cancer

<u>Comité Médical</u> (groupe de coordination) Jean-Pierre GÉRARD Michel BOLLA Pascale ROMESTAING Jacques BALOSSO Pascal POMMIER	<u>Groupe de recherche</u> (chefs de projet) Albert DEMEYER Jean-Yves GIRAUD Behzad SHARIAT Dominique SAPPEY-MARINIER Pascal POMMIER Jacques BALOSSO
---	--

<u>Informations et Secrétariat</u> : Jocelyne CHARNAY Projet ETOILE - IPNL - Université Claude Bernard Lyon 1 F-69622 Villeurbanne Cedex Tél : 04 72 43 12 82 Fax : 04 72 43 12 43 e-mail : j.charnay@ipnl.in2p3.fr		
--	--	--

XV - Conclusion

Le projet ETOILE est né de la rencontre entre médecins oncologues et physiciens des ions lourds et des particules. Il s'est développé depuis grâce à la collaboration de nombreuses autres disciplines (imagerie, mécanique, informatique, biologie cellulaire, physique des accélérateurs, etc).

De nombreuses étapes du projet nécessitent de solides connaissances en physique : simulation des interactions ion-solide et de la fragmentation nucléaire, méthodes d'accélération et de détection des particules chargées, acquisition et transfert rapide de données, ... illustrant parfaitement le thème de cette école d'été de physique (e2phy 2002) qui est de rendre la physique attrayante par ses multiples facettes fondamentales et sociétales.

La mise en route récente de la construction du centre d'hadronthérapie de Heidelberg en Allemagne est très stimulante pour notre groupe de projet dont un des objectifs aujourd'hui est de prouver aux autorités médicales et décisionnelles qu'ETOILE est une chance que la France doit saisir pour disposer d'une thérapie innovante dans le traitement de certains cancers.

Remerciements

Les auteurs remercient tous les membres du groupe ETOILE et leurs établissements de rattachement, ainsi que les quatre autres groupes de projet européens avec qui ils collaborent. Ils expriment aussi leur gratitude à la Région Rhône-Alpes, au Grand Lyon, à l'ANVAR et au Ministère de la Recherche pour le soutien moral et financier qu'ils apportent au projet.

Bibliographie

- [1] JR. Castro, DE. Linstadt, JP. Bahary, PL. Petti, I. Daftari, JM. Collier, PH. Gutin, G. Gauger, TL. Phillips. *Experience in charged particle irradiation of tumors of the skull base: 1977-1992*. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1994;29:647-55
- [2] H. Tsujii, S. Morita, T. Miyamoto, J. Mizoe, T. Kamada, H. Kato, H. Tsuji, S. Yamada, N. Yamamoto, K. Murata. *Experiences of carbon Ion Radiotherapy at NIRS*. Radio-Oncology VII (ed. Kogelnik HD), Monduzzi Editore, 2002
- [3] H. Tsujii. *Current status of hadrontherapy with carbon ion beams*. Eur J Cancer 2001;37(suppl. 6):251
- [4] J. Debus, T. Haberer, D. Schulz-Ertner, O. Jakel, F. Wenz, W. Enghardt, W. Schlegel, G. Kraft, M. Wannenmacher. *Carbon ion irradiation of skull base tumors at GSI. First clinical results and future perspectives*. Strahlenther Onkol 2000;176:211-6
- [5] D. Schulz-Ertner, T. Haberer, O. Jakel, C. Thilmann, M. Kramer, W. Enghardt, G. Kraft, M. Wannenmacher, J. Debus. *Radiotherapy for chordomas and low-grade chondrosarcomas of the skull base with carbon ions*. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2002;53:36-42
- [6] J. Gueulette et al. *Protons RBE for early intestinal tolerance in mice after fractionated irradiation*. Radiotherapy and oncology 61 (2001) 177-184
- [7] *Proton-Ion Medical Machine Study (PIMMS)*. Part I, CERN/PS 99-010 (DI) March 1999 & Part II, CERN/PS 2000-007 (DR) May 2000
- [8] *Projet ETOILE : rapport LYCEN 2002-01 ou rapport DAPNIA – 02-06*
 Résumé du projet
 Volume I : Aspects médicaux et économiques. Recherches associées
 Volume II : Avant-projet technique
 Disponibles en anglais et en français
- [9] D. Böhne. *Synchrotrons for cancer therapy*. EPAC 1992 p 217
- [10] U. Amaldi et al. *A hospital based hadrontherapy complex*. EPAC 1994 p 49
- [11] P. Mandrillon. *High energy medical accelerators*. EPAC 1990 p 263
- [12] P. Bryant. *Developments in the design of proton and ion accelerators*. EPAC 1998 p 207
- [13] *Proposal for a dedicated ion beam facility for cancer therapy*. Universitätsklinik Heidelberg, Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg, Gesellschaft für Schwerionenforschung Darmstadt (1998)

L'imagerie TEP en hadronthérapie

Dominique SAPPEY-MARINIER
CERMEP, Hôpital Neurologique
Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon
mél : Dominique.Sappey-Marinier@univ-lyon1.fr

L'imagerie médicale regroupe un certain nombre de techniques, d'outils et de méthodes qui ont pour objectif de visualiser l'anatomie et/ou le fonctionnement du corps humain pour en détecter les variations pathologiques. Ces techniques non invasives ont pour objectif essentiel soit d'apporter une aide au diagnostic, soit de servir de référence anatomique au radiothérapeute ou anatomo-fonctionnelle au chirurgien.

I - L'imagerie de diagnostic

La batterie des systèmes d'imagerie médicale [1] repose actuellement sur trois grandes techniques et principes physiques, si l'on fait exception des ultrasons: le scanner X, l'IRM et la TEP.

Le scanner X ou tomodensitomètre

Avec les techniques radiologiques basées sur l'utilisation des rayons X, on obtient une information de type anatomique qui atteint une très grande résolution spatiale et une bonne différenciation tissulaire avec le tomodensitomètre (TDM), dénommé aussi scanner X. D'une grande rapidité et très facile d'accès, le scanner X représente encore la technique d'imagerie la plus précise et la plus utilisée. Particulièrement performante pour la détection des cancers à localisation thoracique ou abdominale (Figure 1), cette technique constitue toujours la référence anatomique pour la planification des traitements par radiothérapie.

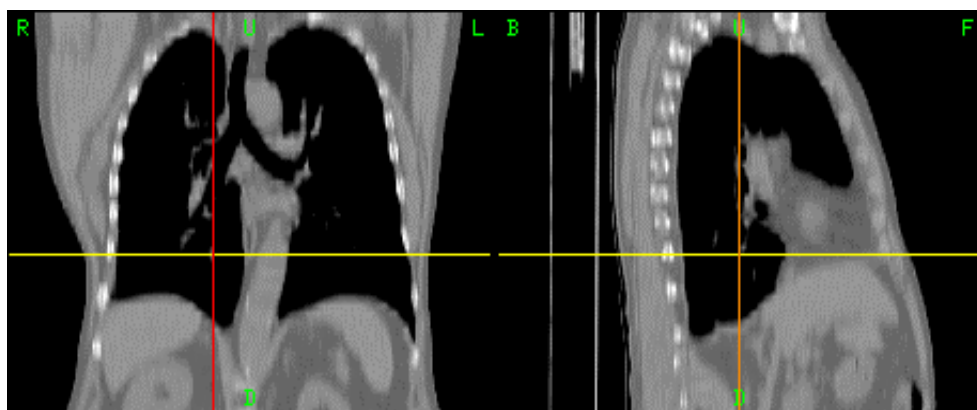


Figure 1 : Coupe thoracique en vue coronale et sagittale.

L'imagerie par résonance magnétique (IRM)

Plus récemment, l'IRM a permis d'obtenir non seulement des images anatomiques d'une grande résolution et d'excellent contraste mais aussi des images fonctionnelles et métaboliques [2,3]. Ainsi, l'IRM constitue la technique de référence en particulier pour l'étude des pathologies cérébrales du fait d'une meilleure caractérisation anatomo-pathologique. Outre les méthodes de perfusion et de diffusion qui auront prochainement un impact dans la caractérisation des pathologies tumorales, l'IRM dite « fonctionnelle » permet de suivre indirectement les phénomènes métaboliques et hémodynamiques consécutifs à l'activation neuronale. Cette technique est particulièrement utile en neurochirurgie pour la localisation des régions fonctionnelles (langage, mémoire) proches de la tumeur à réséquer ou à traiter dans le cadre d'un bilan pré-chirurgical ou pré-radiothérapeutique.

Quant à la **spectroscopie** ou **IRM métabolique**, elle constitue une méthode non irradiante unique pour la caractérisation tissulaire. Par la détection de certains métabolites comme le lactate, marqueur d'un métabolisme anaérobie, ou de la choline, marqueur d'une activité membranaire caractéristique des processus tumoraux, la spectroscopie permet non seulement d'identifier certaines tumeurs mais surtout de caractériser les variations régionales métaboliques qui constituent un indicateur de l'activité tumorale (Figure 2). Cette approche permet alors au radiothérapeute de définir le volume cible avec plus de précision et de spécificité.

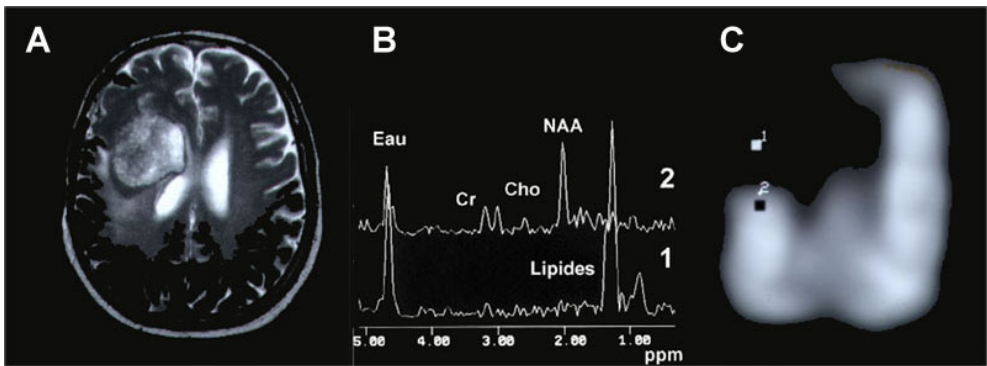


Figure 2 : A) IRM pondérée en T2 montrant une tumeur de type oligoblastome de haut grade, B) Spectres RMN proton prélevés sur l'image métabolique du NAA (C) dans la tumeur (1) et dans le tissu cérébral normal (2) montrant une absence de N-acétylaspartate (marqueur neuronal) (2 ppm) et une augmentation de lipides (1,3 ppm) dans la région tumorale.

Tomographie d'émission de positons (TEP)

Le principe de la TEP (Figure 3) repose sur la détection des photons d'annihilation γ produits en coïncidence lors d'une désintégration β^+ dans la matière. Après injection d'une molécule, traceur d'un métabolisme ou d'une fonction, associée à un isotope émetteur de positons, la TEP au ^{18}F - fluoro-déoxyglucose (FDG) permet de détecter des tumeurs très petites qui possèdent une augmentation de leur métabolisme glucidique [4].

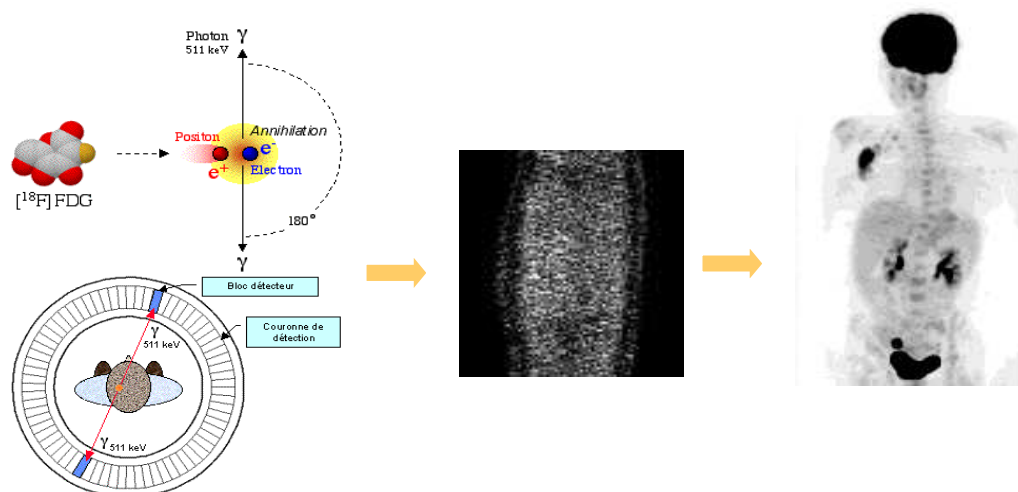


Figure 3 : Une molécule de FDG (traceur) marquée par un isotope radioactif (Fluor 18) est injectée au patient. L'isotope étant émetteur de positons, ce dernier s'annihile avec un électron voisin pour donner naissance à 2 photons γ qui partent en direction opposée avec une énergie de 511 KeV chacun (figures de gauche). La détection en coïncidence de ces 2 photons par une couronne de détecteurs permet d'acquérir un sinogramme (image du milieu) et de reconstruire une image du corps-entier en 3 dimensions (droite). Les zones noires correspondent à une fixation élevée du FDG (cerveau, reins, vessie, tumeurs...).

L'utilisation récente de cette technique pour l'exploration du corps-entier en fait la technique d'excellence de diagnostic des pathologies oncologiques (Figure 4) (tumeurs cérébrales, cancer du poumon, cancer du sein, cancer colorectal, détection des lymphomes...).

II - Place de l'imagerie dans la planification du traitement

En radiothérapie, le scanner X constitue la technique d'imagerie de référence pour réaliser la planification du traitement par radiothérapie. Connaissant la région cible, délimitée par le médecin sur les images de scanner, le radiophysicien prévoit le traitement et calcule la dose déposée dans cette région (Figure 5).

En plus du scanner X qui constitue une excellente référence anatomique, il est donc souhaitable d'utiliser l'IRM qui présente un meilleur contraste tissulaire en particulier pour l'imagerie cérébrale. De plus, l'IRM peut apporter d'autres informations, soit de type métabolique avec la spectroscopie, soit de type fonctionnel avec l'IRM de perfusion ou d'activation, qui permettent de mieux caractériser les limites des régions tumorales. Enfin, grâce à son excellente sensibilité et spécificité, la TEP utilisant du FDG ou de la méthionine constitue la meilleure méthode de détection précoce des tumeurs primaires et secondaires.

Ces images de nature et de modalité différentes apportent des informations complémentaires qui sont d'un grand intérêt pour caractériser la région tumorale et définir le volume cible. Dans ce but, il convient de développer des logiciels de recalage, de fusion et de visualisation adaptés au travail du radiophysicien.

III - L'imagerie de contrôle

Lors d'un traitement d'hadronthérapie utilisant un faisceau d'ions carbone, les interactions physiques entre les ions et la matière traversée (principalement composée de molécules d'eau pour un corps humain) engendrent par phénomène de fragmentation la production de particules plus légères comme le ^{10}C , ^{11}C , ^{13}N , ^{14}N , ^{15}N , ^{15}O ... (Figure 6). Or certains de ces atomes sont émetteurs de positons et par conséquent peuvent être détectés par TEP. La présence de particules émettrices de positons et l'utilisation de la TEP a donc le double avantage de permettre de suivre le parcours des particules secondaires et donc de calculer la distribution spatiale et dosimétrique du faisceau primaire.

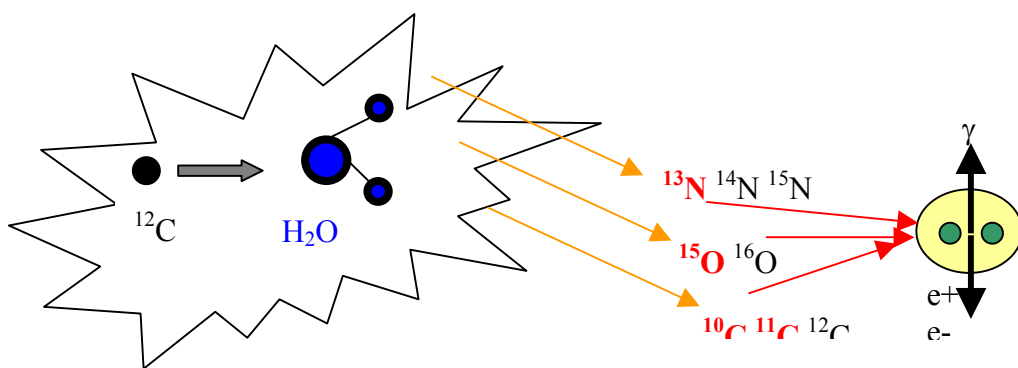


Figure 6 : Schéma de fragmentation des ions ^{12}C arrivant sur une cible composée de molécules d'eau (H_2O). Cela donne naissance à une multitude de noyaux plus légers dont certains (en rouge) sont émetteurs de positons (e^+) qui après annihilation avec un électron (e^-) de la matière donnent naissance à deux photons γ .

L'utilisation d'une caméra TEP permet de détecter les photons γ et ainsi de reconstruire une image de la concentration en positons. L'enregistrement de cette image peut se faire soit pendant le traitement par faisceaux d'ions carbone, et on parle alors d'enregistrement en ligne, soit après. En effet, certains noyaux émetteurs de positons comme le ^{11}C ont une demi-vie de 20 min ce qui permet de réaliser l'examen TEP après le traitement.

Enregistrement TEP

L'enregistrement « hors ligne » constitue une solution simple dans la mesure où une caméra TEP commerciale convient. Si cette solution bénéficie d'un temps d'acquisition pouvant être plus long car réalisé en post-traitement, elle souffre de l'absence d'information *in situ* et de retour immédiat pendant l'irradiation. De plus, le déplacement potentiel des organes après l'irradiation ainsi que le changement de distribution des isotopes pendant ce délai peuvent nuire à la précision spatiale des informations.

L'enregistrement « en ligne » présente plusieurs avantages. Le premier consiste à effectuer l'enregistrement le plus tôt possible pour réaliser une image *in situ* avec la meilleure précision spatiale. L'enregistrement est alors réalisé pendant le traitement. Deuxièmement, cette configuration permet de détecter les noyaux de courte période comme ^{15}O et le ^{10}C qui produisent le plus de signal. Cependant, cette configuration ne permet pas d'obtenir une bonne statistique de comptage du fait d'un angle solide et d'un temps d'acquisition très réduits. C'est pourquoi la réalisation d'un tel enregistrement en ligne nécessite la conception d'un système nouveau, adapté aux contraintes du traitement par hadronthérapie, c'est-à-dire ayant la meilleure sensibilité compte tenu d'une géométrie imparfaite. En effet, pour placer la caméra autour du patient pendant l'irradiation tout en laissant un passage dans l'axe du faisceau, il convient d'imaginer un anneau de détection spécial. Compte-tenu d'un angle solide réduit et de la faible intensité du faisceau de particules secondaires, il est nécessaire de disposer d'un système beaucoup plus sensible que ceux actuellement commercialisés.

La figure 7 montre une photographie de la salle de traitement d'hadronthérapie du centre GSI à Darmstadt (Allemagne) qui constitue l'unique centre de traitement utilisant la TEP en ligne.

Un outil clinique de dosimétrie

La détection d'une image de positons permet d'établir la cartographie des fragments et ainsi de calculer, par une modélisation appropriée, la distribution du faisceau primaire et la dose déposée dans le

volume cible. Cependant, ce travail est complexe et dépend de la précision du modèle utilisé. Le modèle doit simuler un nombre important de paramètres comme les processus de fragmentation et d'arrêt, les constantes radioactives des particules primaires et secondaires, et les échanges entre compartiments. De plus, cette modélisation corrigera les effets d'atténuation, de transmission et de détection des rayons γ .



Figure 7 : Salle de traitement par hadronthérapie montrant la disposition des détecteurs TEP autour du patient pendant l'irradiation par faisceau d'ions carbone. (photographie: A. Zschau, GSI Darmstadt)

Conclusion

La TEP est une nouvelle technique d'imagerie diagnostique dont le potentiel va au-delà de la cancérologie puisque de très nombreuses autres molécules peuvent être marquées avec le fluor-18 ou d'autres radionucléides. Pour atteindre cet objectif, il faut orienter les développements dans deux directions, en faisant appel d'une part aux chimistes, pour développer de nouveaux traceurs, et d'autre part aux physiciens, pour développer une instrumentation permettant d'améliorer la sensibilité et la rapidité des caméras pour un coût raisonnable.

Dans le cadre des traitements par faisceau d'ions carbone ou proton, la TEP en ligne constitue une approche nouvelle en radiothérapie qui nécessite des développements méthodologiques et instrumentaux.

Bibliographie

1. P. Grangeat. La tomographie Médicale, Imagerie morphologique et imagerie fonctionnelle. Paris, Hermès Science Publications (2002).

2. B. Kastler. Comprendre l'IRM. Paris, Masson (2001).
3. D. Sappey-Marini et D.L. Arnold : L'avenir de la résonance magnétique nucléaire en neurologie. La Lettre du Neurologue (2001).
4. J. Maublant, JP. Vuillez, JN. Talbot et al. Tomographie par émission de positons (TEP) et [F-18]-fluorodésoxyglucose (FDG) en cancérologie. Bull. Cancer 85, p. 935 (1998).

Évaluation et gestion des risques liés aux méthodes physiques d'investigation

André AURENGO
Service de Médecine Nucléaire
Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris
mél : andre.aurengo@psl.ap-hop-paris.fr

Dans l'immense majorité des cas, les méthodes d'investigation *in vivo* utilisées en routine clinique présentent pour les patients des avantages potentiels qui dépassent largement les risques plus ou moins hypothétiques qu'elles leur font encourir. Cela ne dispense pas d'une approche très rigoureuse de leur utilisation, de l'approfondissement de l'étude de leurs effets secondaires éventuels. Leur utilisation doit également prendre en compte la protection du personnel des services d'exploration, des services demandeur d'examens, des proches du patient et du public, qui sont éventuellement concernés, selon le type d'investigation.

Nous prendrons l'exemple de l'imagerie et nous distinguerons deux groupes de techniques.

Nous envisagerons tout d'abord le cas des investigations utilisant des rayonnements ionisants : radiologie classique et interventionnelle, scanographie, radiologie numérisée, scintigraphie. Nous détaillerons les niveaux d'exposition du patient et des autres personnes concernées, comment on peut évaluer les risques correspondants et comment leur gestion doit prendre en compte les principes généraux de la radioprotection, leur déclinaison dans le cadre médical et la réglementation européenne et française. Nous montrerons qu'il faut également évaluer d'autres risques associés, comme ceux qui résultent de l'utilisation de produits de contraste. Nous examinerons comment ces différents éléments peuvent s'intégrer dans une stratégie diagnostique efficace et raisonnable.

Nous examinerons ensuite le cas des investigations utilisant soit des ultrasons (échographie) soit des champs magnétiques statiques et des radiofréquences (IRM). Nous montrerons dans ces deux exemples ce que nous savons des risques de ces techniques, risques hypothétiques et risques avérés (par exemple les problèmes de compatibilité électromagnétique posés par l'IRM et les pace-makers). Nous montrerons que ces risques, actuellement très faibles, peuvent devenir des facteurs limitants des progrès de ces techniques.

Il n'est pas possible d'obtenir des informations sur un système sans interagir avec lui et l'organisme humain n'échappe pas à cette contrainte.

Toute investigation sur l'homme s'accompagne d'une interaction dont les conséquences doivent être connues, évaluées, et comparées aux bénéfices que l'on peut en attendre pour l'intéressé, en s'interrogeant toujours sur l'impact que les informations que l'on attend pourront avoir sur la prise en charge du patient. Aucun examen inutile ne devrait être pratiqué. Cependant, le plus grand « danger » des examens inutiles n'est probablement pas d'ordre physique mais financier : leur coût représente à l'échelle d'un grand pays un gaspillage considérable des ressources affectées à la santé et les détourne d'utilisations plus utiles à la collectivité.